UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

LUIZ MIGUEL FRANCO LEITE

PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DO DIAGNÓSTICO PARA LEISHMANIOSE CANINA

CAMPO GRANDE – MS
2023

LUIZ MIGUEL FRANCO LEITE

PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DO DIAGNÓSTICO PARA LEISHMANIOSE CANINA

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Católica Dom Bosco – UCDB para obtenção do título de Médico Veterinário.

Orientador: Professor MSc. Ricardo Martins Santos

CAMPO GRANDE – MS

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e Nossa Senhora, por me permitir estudar nessa Universidade, como também por ter me concedido no ano de 2019, uma bolsa de 100% para graduação neste curso de Medicina Veterinária, profissão esta que eu tanto sonhava em algum dia exercer. Agradeço também por ter me fortalecido, e auxiliado durante todo o caminho desta graduação, tanto em momentos difíceis e de desesperos como nos de alegria e felicidade.

Agradeço a minha família, meus pais Roberto Carlos e Angela Beatriz, assim como ao meu irmão João Paulo, por me auxiliar e dar todo o apoio necessário durante não somente esses anos de graduação, como também durante toda minha vida, por demonstrarem toda gratidão, felicidade e sentimentos de realização, por eu estar terminando esta parte da jornada da minha vida, todas as conquistas e realizações até o presente dia de hoje, foram em grande parte por eles me derem este apoio, pois sem eles, não teria as conseguiria sozinho.

Agradeço novamente ao meu irmão João Paulo, que como meu Veterano, e atualmente Médico Veterinário, se tornou por muitas vezes meu guia e minha base na academia, que sem sua ajuda, não haveria conseguido chegar tão longe, assim como, não teria conseguido ter acesso a tantas oportunidades a mim apresentadas.

Agradeço a minha excelentíssima Mestra Prof. Dra. Rosalia Marina I. Z., no qual estive sob sua supervisão, orientação e apoio durante estes 5 anos de graduação, assim como durante estes 4 anos de monitorias na área de Diagnóstico por Imagem e Anatomia, que fizeram a diferença na minha jornada, todo apoio que ela me deu, foram de grande importância para minha graduação, se tornando alguém muito especial para mim, que desta forma, estes momentos me recordarei para sempre.

Agradeço ao meu amigo e excelentíssimo Orientador Prof. MSc. Ricardo Martins Santos por me estar auxiliando e me apoiando, durante todos estes anos de graduação e monitorias nos laboratórios de Microbiologia e Imunologia, por sempre estar de prontidão para ajudar e me explicar tudo que eu precisasse, se tornando alguém de imensa importância para mim, e agradeço principalmente por ter aceito ser meu orientador e ter feito parte desta minha longa caminhada, por me ter direcionado e ensinado.

Agradeço em geral aos professores, que me acompanharam e me auxiliaram na minha graduação, pois cada um teve um papel importante, de orientação e de ensino, em cada área acadêmica, tanto na minha vida, quanto na vida de meus colegas acadêmicos.

Agradeço também a todos aqueles que se tornaram meus amigos durante a graduação, que me apoiaram, me auxiliaram, e quero agradecer principalmente e especialmente a estes amigos, que estiveram comigo desde o início desta jornada, que são pessoas que tenho imenso carinho, os quais tem muita importância e que sempre farão parte da minha vida, a Gisele Rezende da Costa, Mariane Oliveira Malaquias e Ramon Pereira da Silva.

Agradeço à minha supervisora, a Médica Veterinária MSc. Maristela Halverson e ao M. V. Angelo Munhoz que abriram as portas do seu laboratório, e me deram a oportunidade de fazer estágio neste ambiente incrível que é o CEAV, e agradeço especialmente a Maristela, que me ensinou e auxiliou em muitas coisas, que se mostrou ser uma pessoa muito atenciosa, querida, compreensível.

Quero agradecer profundamente a M.V. Nayara Romero que foi de extrema importância durante esse ano de estágio no CEAV, ela que foi responsável, por me ensinar boa parte de tudo que sei da área laboratorial, me acolheu e me ensinou a vivência laboratorial, ela que se tornou minha guia nesta reta final da minha jornada, como também uma amiga e conselheira de grande importância para mim.

Também quero agradecer a M.V. Mariana Gomes que apesar do curto período de convivência no CEAV, foi o suficiente para ver o quão amiga e inteligente essa pessoa é, e que continua sendo até hoje, agradeço, pois, junto com a Nayara, esteve me ajudando demasiadamente durante meu estágio supervisionado, me ensinando muitas coisas.

Agradeço a todos os funcionários e membros do Hospital Veterinário NEOVETS, pois se mostraram ser pessoas amigas e acolhedoras, que por algumas vezes pude ver e compreender outras especialidades, além de terem garantido uma ótima convivência durante esse ano de estágio.

Não esquecendo de todos com os quais convivi por quase dois anos como estagiário na Clínica Veterinária e Pet Shop Animais e Cia, que foi um marco importante, experiencias na área principalmente de internação que me permitiram discernir o que eu queria tomar como meu caminho na profissão. Agradeço

especialmente a M.V Ana Carolina Robles, que na época era a Responsável Técnica do local, que por muitas vezes me ensinou várias coisas durante este período.

Por fim agradeço ao Laboratório LabDOC, por todos os ensinamentos vindos de lá, onde fiz estagio nos meus 3 primeiros semestres de graduação, por tudo que aprendi e por ter me mostrado o qual interessante e incrível é a área laboratorial, neste laboratório que foi o início deste meu desejo de exercer minha profissão como patologista clínico, agradeço especialmente a M.V MSc. Leizinara Gonçalves, que foi uma grande responsável pelos ensinamentos a mim disponibilizados durante meu estagio no LabDOC.

“Um médico que depende do laboratório para concretizar seu diagnóstico provavelmente seja inexperiente; aquele que diz não necessitar de laboratório está desinformado. Em qualquer das circunstâncias, o paciente está em perigo.”
(James. A. Halsted)

RESUMO

Dentre as hemoparasitoses, a leishmaniose tem grande importância, tendo como vetor o flebotomíneo como responsável pela transmissão da *Leishmania sp.* em suas duas formas, a visceral (*L. infantum*) e a tegumentar (*L. braziliensis e L. amazonenses*). O isolamento social causado pela pandemia do Coronavírus SARS-CoV-2 tem provocado um aumento na importância da leishmaniose, devido às interações mais frequentes entre humanos e animais, pois provoca uma série de sintomas e alterações hemato-bioquímicas muito semelhantes a outras hemoparasitoses, podendo gerar reações cruzadas e falsos positivos, tendo seu diagnóstico como um dos desafios da medicina veterinária. Com o objetivo de auxiliar os profissionais da área a identificar e correlacionar as alterações apresentadas, foi realizado um estudo documental, levantando e tabulando dados, elencados com base em exames hematológicos e bioquímicos de cães acometidos pela leishmaniose, que tiveram confirmação diagnóstica através de achados em esfregaços de sangue, exames citológicos, histológicos e PCR, e também em animais reagentes a testes sorológicos de ELISA e RIFI. Foram selecionados 90 casos, e após a coleta dos dados, foram listados estudos que ocorreram em pelo menos 50% dos exames, portanto dentre as alterações encontradas em cada estudo respectivamente, a hiperproteinemia foi elencada com maior pertinência (72,22 % e 68,75%), seguido de diminuição da relação A/G (64,44% e 75%), hipoalbuminemia (55,55% e 81,25%), hiperglobulinemia (83,33% e 81,25%), hipohemoglobinemia (51,11% e 81,25%), rouleaux (42,22% e 68,75%), trombocitopenia (35,55% e 50%), eritrocitopenia (53,33% e 81,25%) e anemia (51,11% e 81,25%), principalmente do tipo normocítica normocrômica (45,56% e 75%). Por fim, comprovou-se que existe uma variedade de alterações relacionadas à leishmaniose, mas dentre elas a hiperproteinemia, foi a alteração mais importante, visto que pode estar relacionada à causa de todas as outras alterações também encontradas.

Palavras-chaves: Alterações hemato-bioquímicas. *Leishmania sp.*. Hiperproteinemia.

ABSTRACT

Among hemoparasitoses, leishmaniasis is of great importance, with the sandfly acting as the vector responsible for transmitting Leishmania sp. in its two forms: visceral (L. infantum) and cutaneous (L. braziliensis and L. amazonenses). The social isolation caused by the SARS-CoV-2 coronavirus pandemic has led to an increased significance of leishmaniasis due to more frequent interactions between humans and animals. This is because leishmaniasis causes a series of symptoms and hemato-biochemical changes very similar to other hemoparasitoses, potentially leading to cross-reactions and false positives. Diagnosing leishmaniasis poses a challenge in veterinary medicine. To assist professionals in the field to identify and correlate the presented alterations, a documentary study was conducted. Data were collected, compiled, and listed based on hematological and biochemical examinations of dogs affected by leishmaniasis, with diagnostic confirmation through findings in blood smears, cytological and histological examinations, and PCR. Additionally, animals reactive to ELISA and IFA serological tests were included. Ninety cases were selected, and after data collection, studies that occurred in at least 50% of the cases were listed. Among the alterations found in each study, hyperproteinemia was identified as the most relevant (72.22% and 68.75%), followed by a decrease in the A/G ratio (64.44% and 75%), hypoalbuminemia (55.55% and 81.25%), hyperglobulinemia (83.33% and 81.25%), hypohemoglobinemia (51.11% and 81.25%), rouleaux formation (42.22% and 68.75%), thrombocytopenia (35.55% and 50%), erythrocytopenia (53.33% and 81.25%), and anemia (51.11% and 81.25%), mainly of the normocytic normochromic type (45.56% and 75%). In conclusion, it was confirmed that there is a variety of alterations related to leishmaniasis, but among them, hyperproteinemia was the most important alteration, as it may be related to the cause of all the other alterations found.

Keywords: Hemato-biochemical changes, *Leishmania sp.*. Hyperproteinemia

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Tabela 1: Percentual (%) de animais que tiveram confirmação diagnóstica de Leishmaniose..... 26
Tabela 2: Alterações em eritrograma e plaquetograma encontradas a partir dos dados dos exames..... 27
Tabela 3: Alterações encontradas no leucograma, a partir dos dados coletados dos exames..... 27
Tabela 4: Alterações observadas microscopicamente, encontradas a partir dos dados dos exames..... 28
Tabela 5: Alterações em bioquímicos e proteínas encontradas a partir dos dados dos exames..... 28
Gráfico 1: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica..... 29
Gráfico 2: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica em pelo menos 50% ou mais, dos exames hematológicos no estudo..... 31
Tabela 6: Percentual (%) de animais que tiveram confirmação diagnóstica de leishmaniose, em cada método de diagnóstico confirmatório..... 32
Tabela 7: Alterações em eritrograma e plaquetograma encontradas a partir dos dados dos exames com diagnóstico confirmatório..... 33
Tabela 8: Alterações encontradas no leucograma, a partir dos dados coletados dos exames com diagnóstico confirmatório..... 33
Tabela 9: Alterações observadas microscopicamente, encontradas a partir dos dados dos exames com diagnóstico confirmatório..... 34
Tabela 10: Alterações em bioquímicos e proteínas encontradas a partir dos dados dos exames com diagnóstico confirmatório..... 34
Gráfico 3: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica no estudo..... 35
Gráfico 4: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica em pelo menos 50% ou mais, dos exames hematológicos no estudo..... 37

Tabela 11: Tipos de anemias encontradas a partir dos dados dos exames do estudo..... 41
Gráfico 5 – Frequência (%) da ocorrência dos tipos de anemia predominantes no estudo..... 42
Gráfico 6: Exames realizados durante o período de estagio, sendo divido por setores..... 48
Gráfico 7: Exames hematológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame..... 49
Gráfico 8: Exames bioquímicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame..... 51
Gráfico 9: Exames de urinálise realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame..... 52
Gráfico 10: Exames parasitológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame..... 53
Gráfico 11: Exames citológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame..... 54
Gráfico 12: Exames imunológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame..... 55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esfregaço de sangue periférico de cão..... 16
Figura 2. Citologia de conjuntiva de cão..... 17
Figura 3. Esfregaço de sangue periférico de cão..... 19
Figura 4. Citologia de linfonodo pré-escapular de cão..... 20
Figura 5. A: Citologia de conjuntiva de cão, B: Citologia de lesão cutânea ulcerada de cão..... 21
Figura 6. A: Esfregaço sanguíneo mostrando a formação de rouleaux, B: Esfregaço sanguíneo de um cão normal..... 40
Figura 7. Entrada principal do prédio NEOVETS..... 46
Figura 8. Visão geral laboratório CEAV..... 46
Figura 9. Parte administrativa CEAV..... 47
Figura 10. Parte hematológica CEAV..... 47
Figura 11. Parte onde são realizados o preparo e os exames bioquímicos..... 48

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO..... 10
2 INTRODUÇÃO..... 11
3 REVISÃO DE LITERATURA..... 14
3.1 VETORES..... 14
3.1.1 Flebotomíneo..... 14
3.2 LEISHMANIOSE..... 15
3.2.1 Leishmaniose Visceral..... 15
3.2.2 Leishmaniose Tegumentar..... 17
3.3 EXAMES E TESTES DE DIAGNÓSTICO..... 18
3.3.1 Esfregaço de Sangue Periférico..... 19
3.3.2 Citologias..... 20
3.3.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)..... 22
3.3.4 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)..... 22
3.3.5 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)..... 23
4 MATERIAL E MÉTODOS..... 24
4.1 LOCAL..... 24
4.2 REFERENCIAL TEÓRICO..... 24
4.3 POPULAÇÃO ALVO..... 24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 26
5.1 ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NOS EXAMES QUE TIVERAM DIAGNÓSTICO CONFIRMATÓRIO..... 32
6 CONCLUSÃO..... 44
7 RELATÓRIO DE ESTÁGIO – CENTRO ESPECIALIZADO EM ANÁLISES VETERINÁRIAS (CEAV)..... 45
7.1 INTRODUÇÃO..... 45
7.2 DESCRIÇÃO DO LOCAL..... 45
7.3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS..... 49
7.3.1 Hematologia: Analises de Esfregaço de Sangue Periférico..... 49
7.3.2 Bioquímicos..... 50
7.3.3 Urinálise..... 52

7.3.4 Exames Parasitológico de Fezes..... 52
7.3.5 Exames de pesquisa de parasitas, fungos e ácaros em raspado de pele e pelos..... 53
7.3.6 Exames de Citologia..... 54
7.3.7 Execução de exames imunológicos..... 55
7.4 CONCLUSÃO..... 56
REFERÊNCIAS..... 57
ANEXOS..... 71

1 APRESENTAÇÃO

As hemoparasitoses tem uma distribuição mundial, principalmente por seus vetores serem carrapatos e mosquitos, assim nem paredes, muros ou vegetação podem impedi-los de atacarem os animais, com o surgimento da pandemia do Coronavírus SARS-CoV-2, as pessoas começaram a viver num isolamento social, aumentando a interação homem-animal e a importância dos cuidados com a saúde de todos. Dentre eles a *Leishmania sp.*, uma doença comum em regiões tropicais como no Brasil, teve uma grande importância por depender de cães para seu reservatório, causando uma série de sintomatologias, e alterações hematológicas e bioquímicas muito semelhantes a outras hemoparasitoses, e por estarmos numa região endêmica, seu diagnóstico sempre foi um dos desafios da medicina veterinária.

Apresenta-se a realização de um estudo de caráter documental, no qual foi feito um levantamento e tabulação de dados, elencados com base em exames hematológicos e bioquímicos de cães acometidos por leishmaniose, que tiveram confirmação diagnóstica através de achados em esfregaço sanguíneo, exames citológicos, histológicos e PCR, e também animais que foram reagentes a testes sorológicos, tais como ELISA e RIFI. As alterações encontradas mais frequentemente foram elencadas com o intuito de auxiliar os profissionais da área, a identificar e correlacionar as alterações apresentada, dos quais são, a hiperproteinemia, diminuição na relação A/G, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, hipohemoglobinemia, rouleaux, trombocitopenia, eritrocitopenia e anemia, principalmente a do tipo normocítica normocrômica.

Em seguida, relata-se um relatório de estágio, realizado no Centro Especializado em Análises Veterinárias - CEAV, uma adjacência ao centro de especialidades NEOVETS. Durante o período de estágio, foi possível aprender com os profissionais da área, a realização de exames, tais como bioquímicos, hematológicos, urinálise, parasitológicos, imunológicos, citológicos e demais procedimentos laboratoriais cabíveis à patologia clínica, e passíveis que forem efetuadas com total responsabilidade do estagiário, sob supervisão.

2 INTRODUÇÃO

Cada vez mais os animais domésticos, principalmente cães e gatos, estão presentes no convívio dos seres humanos, e estão se tornando seres muito importantes, principalmente após a pandemia Do Coronavirus SARS-CoV-2 (do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome – Related Coronavirus 2*), nomeado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como COVID-19 (do inglês *Coronavirus Disease* 19), que iniciou no ano de 2019, aumentando a interação homem-animal, fazendo com que os animais tenham mais contato com humanos, e tendo suas rotinas alteradas (SILVA *et al*., 2021; ADOLFO & SILVA, 2022).

Com o isolamento social, as pessoas começaram a observar detalhes e sentir mais a necessidade de ter mudanças na sua rotina, principalmente por alguns estarem sós em casa, e em busca de companhias começaram a buscar por animais domésticos, com isso se teve um constante crescimento na adoção destes pelo mundo. Visto que aqueles que já possuíam animais, começaram a dar mais atenção sobre suas vidas, saúde, higiene e bem estar, o que levou o aumento no número de casos de animais levados ao veterinário por diversas patologias, dentre elas hemoparasitoses, visto que são algo que mesmo dentro de suas casas, eles podem acabar sendo acometidos (DIVINO, 2020; BRUM & CARVALHO, 2022).

Vetores hematófagos, como os carrapatos e mosquitos, são os principais transmissores de hemoparasitoses como anaplasmose, babesiose, ehrlichiose e leishmaniose, apesar de haver barreiras urbanas, como paredes, muros e cercas, estas não impedem a chegada desses vetores aos animais, e estes artrópodes tendem ainda a se alojarem em vãos de paredes e áreas de vegetação (NOGUEIRA, 2022; MONTEIRO, 2007).

Apesar das hemoparasitoses terem uma ampla distribuição mundial, o Brasil, por estar numa região tropical, e somado ao fato do aumento do número de animais domésticos, principalmente cães, corrobora para a proliferação de hemoparasitas, dentre eles a *Leishmania sp.,* que se destaca por não se depender unicamente de cães como seu reservatório para sua proliferação (BARATA *et al.*, 2005). Com sua alta incidência na região, e o grande número de vetores e reservatórios, a *Leishmania sp.*, assim como hemoparasitas em geral, se tornaram um tema de grande importância na medicina veterinária, por apresentarem diversas variantes, e principalmente por

alguns destes demonstrarem potencial zoonótico (BRUM & CARVALHO, 2022; VIEIRA, 2017).

A *Leishmania spp*. é um dos diversos tipos de microrganismos hemoparasitas, que acometem cães nesta região, e por conta da sua semelhança entre sinais clínicos e características apresentadas por outros agentes causadores de hemoparasitose, o diagnóstico desta sempre foi um dos grandes desafios da medicina veterinária. Para auxiliar nos diagnósticos existem vários exames e testes, não somente através do teste ouro que é a visualização do agente em lâmina de esfregaços sanguíneos, mas também aqueles que envolvem reações enzimáticas, como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), e principalmente a que usa detecção do DNA por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*), auxiliando assim na eficácia do diagnóstico (OTRANTO *et al*., 2010; MONTEIRO, 2007).

Além dos testes de diagnóstico, um fator importante para auxiliar no estudo do caso, tratamento como também o diagnóstico de hemoparasitoses, são exames realizados por laboratórios de análises clínicos veterinários a partir de sangue coletado, destes os mais importantes e aqueles principalmente realizados na rotina clínica veterinária, são os perfis de hematologia e bioquímica (SANTÉ, 2021; PREVENTIVA, 20--; SÃO JOSÉ, 20--).

Na hematologia, é realizado o hemograma completo, que consiste na realização de analises do sangue total coletado, no qual será feito eritrograma, plaquetograma e leucograma que são realizados normalmente por aparelhos hematológicos e a pesquisa de parasitas no esfregaço sanguíneo realizado por veterinários patologistas. Já a parte bioquímica consiste na realização de análises do soro e/ou plasma do sangue dos animais, por meio de uma análise quantitativa e detecção da concentração de certos químicos presentes (STOCKHAM & SCOTT, 2011f; CAMPBELL, 2015).

Já existem diversas pesquisas sobre a leishmaniose, principalmente aquelas que tem como âmbito, medir a incidência desta e outras hemoparasitoses em certas regiões, como as feitas no Espírito Santo (VIEIRA, 2017), Minas Gerais (RODRIGUES *et al*., 2018), Rio Grande do Norte (NOGUEIRA, 2022) e Rondônia (BRUM & CARVALHO, 2022). Porém poucas destas pesquisas focavam nas espécies da *Leishmania sp.* e também correlacionavam as alterações hematológicas e

bioquímicas encontradas nos exames, com o agente responsável pela hemoparasitose destes animais.

Objetivou-se com este estudo, trazer novos dados sobre prováveis características da leishmaniose, a fim de montar um novo método diagnóstico embasado em análise clínico-patológica, com o intuito de auxiliar os profissionais da área, além de identificar e correlacionar as alterações, achados hematológicos e método de diagnóstico de cada um dos exames para Leishmaniose canina com o intuito de auxiliar o diagnóstico clínico prático.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 VETORES

O termo vetor é utilizado para descrever seres que são veículos de transmissão de patógenos para outros organismos, e dentre estes que atingem cães e gatos temos os dípteros. (FERREIRA *et al.*, 2021; GAZZINELLI, 2015). Na ordem Díptera, pode ser encontrado o vetor responsável pela principal forma de transmissão de *Leishmania spp.* que são os flebótomos ou flebotomíneos, conhecidos popularmente como “mosquito palha” ou “flebótomo” (SILVA, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2005).

3.1.1 Flebotomíneo

A ordem Díptera pode ser dividida em duas grandes subordens: Nematocera e Brachycera, na qual na Nematocera podemos encontrar os mosquitos, sendo aqueles pertencentes a família Psychodidae tendo as principais espécies de vetores que fazem a transmissão da *Leishmania sp.* os flebotomíneos (URQUHART *et al.*, 1998; MONTEIRO, 2007; TAYLOR *et al*., 2016).

Eles possuem grande importância na medicina veterinária, por serem vetores de *Leishmania spp.* e por serem muito comuns em cães e poderem parasitar humanos, principalmente durante altas infestações, e até mesmo podendo transmitir certos vírus (URQUHART *et al.*, 1998; AHID, 2009; MONTEIRO, 2017).

Dentre os principais gêneros da família Psychodidae, estão o gênero *Phlebotomus*, como principal vetor na Europa, e o gênero *Lutzomyia* como o principal vetor nas américas, sendo este último o responsável pela transmissão de *Leishmania spp*. no Brasil, mas também em certos casos, é o vetor de alguns vírus como os causadores da febre papatasi (Vírus Toscana – *Phlebovirus*) e em animais de produção o vírus da estomatite vesicular (*Vesiculovirus*) (URQUHART *et al*., 1998; CIUFOLINI *et al.*, 2007; GAZZINELLI, 2015; MONTEIRO, 2017).

3.2 LEISHMANIOSE

A leishmaniose é uma enfermidade infecciosa de caráter crônico, zoonótico e de distribuição mundial, causada por um protozoário cinetoplastídeo pleomórfico, podendo ser encontrada em dois tipos, a leishmaniose tegumentar e a visceral. (STOCKHAM & SCOTT, 2011a).

3.2.1 Leishmaniose Visceral

A leishmaniose visceral (L.V.) é uma importante zoonose das américas, no qual, pode ser causada pelo gênero *Leishmania infantum* (*syn. L. chagasi*), que dentre as várias variantes, é o principal agente etiológico da doença em canídeos, que são o reservatório mais importante da doença em áreas urbanas, apesar de que ainda existam alguns casos raros, de L.V. em felinos. A leishmaniose devido a gravidade de sua sintomatologia, por seu ciclo ser heteróxeno e principalmente por não se ter uma cura até o momento, tem grande importância na Medicina veterinária, onde todos os anos são desenvolvidos novos métodos de tratamento e controle (GUALDA *et al.*, 2015; LAURINDO, 2021; MARCONDES & VASCONCELLOS, 2021).

Os parasitos apresentam-se sob duas formas: amastigota, contendo núcleo e cinetoplasto, podendo ser encontrada sob as formas de gota e oval no interior de células do sistema imune, como neutrófilos e monócitos (Figura 1), com maior frequência nas pertencentes ao sistema mononuclear fagocitário; e promastigota, que possuem núcleo, cinetoplasto, além de um flagelo livre, sendo encontradas normalmente no tubo digestório do flebotomíneo (STOCKHAM & SCOTT, 2011a; FERREIRA *et al.*, 2021).

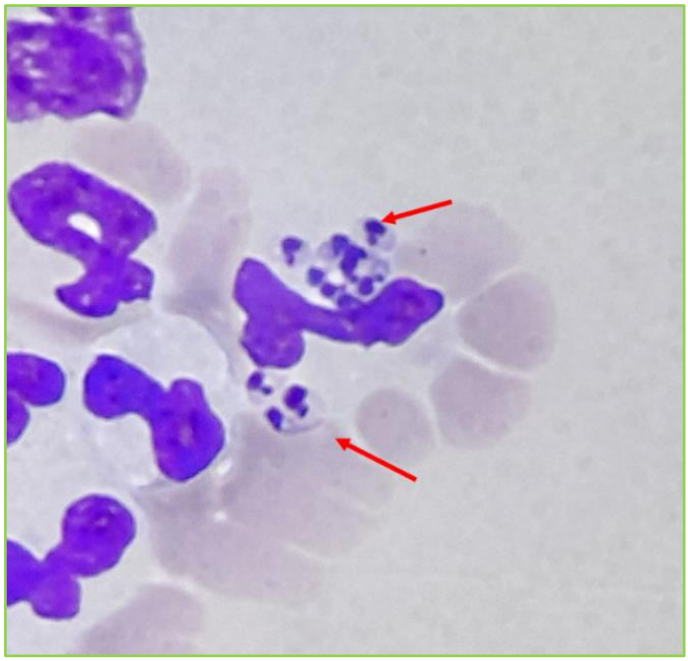


Figura 1. Esfregaço de sangue periférico de cão, apresentando neutrófilo contendo vários organismos *Leishmania sp.* (setas), podendo ser observado no citoplasma destas, o núcleo oval e cinetoplasto ventral pequeno e escuro (arquivo pessoal). (aumento da observação em 1000x, com objetiva de 100x coloração de *Diff-Quick*)

O parasitismo ocorre primeiramente na pele do hospedeiro, no qual estes adquirem os parasitas através do repasto sanguíneo da fêmea do flebotomíneo, após esse acontecimento o corpo reage naturalmente fazendo então que se dê início a um processo inflamatório na região da picada. Na saliva dos flebótomos existem substancias que causam vasodilatação na região da picada, auxiliando na disseminação das promastigotas. As primeiras células recrutadas como resposta inflamatória são os leucócitos, e certos componentes que estão naturalmente ligados a promastigotas, irão agir como opsoninas, para assim facilitar o parasitismo em células fagocitárias, auxiliando em seu englobamento (PEREIRA, 2006; STOCKHAM & SCOTT, 2011b).

Dentre estes, neutrófilos, monócitos e principalmente os macrófagos (Figura 2), são os responsáveis pela fagocitose e parte do ciclo da *L. infantum.* Após adentrarem o citoplasma do macrófago, as promastigotas se transformam em formas aflageladas, as amastigotas e vão se multiplicando nos vacúolos parasitóforos, conseguindo assim destruir os macrófagos por rompimento celular e infectando novas células. Elas também podem formar bolsas de proteção no interior do macrófago, no qual abrigam

as amastigotas e as protegem de outros possíveis ataques do sistema imune, fora que subvertem a resposta imune da célula hospedeira, desativando-a internamente (FIOCRUZ, 1997; STOCKHAM & SCOTT, 2011d; ANDRADE, 2013; CAMPBELL, 2015).

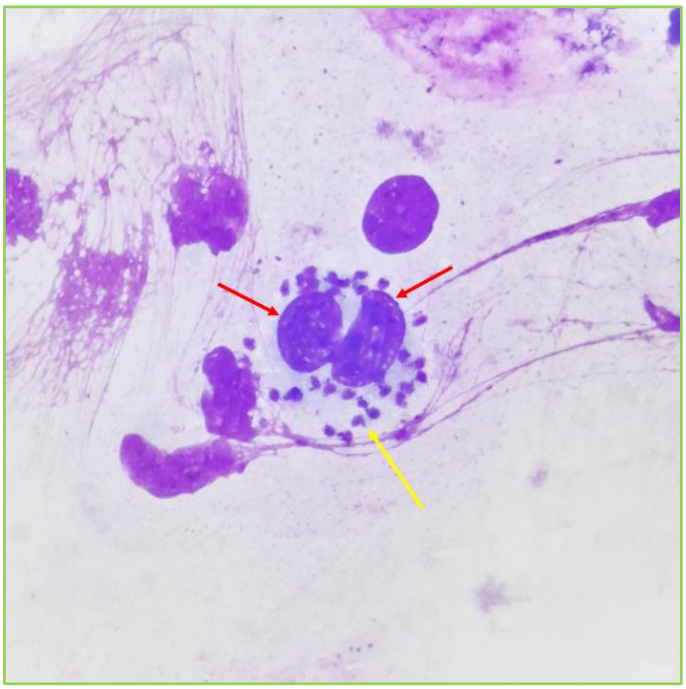


Figura 2. Citologia de conjuntiva de cão, apresentando dois macrófagos (setas vermelhas), contendo vários organismos *Leishmania sp.* (seta amarela) (arquivo pessoal). (aumento da observação em 1000x, com objetiva de 100x coloração de May Grunwald-Giemsa)

3.2.2 Leishmaniose Tegumentar

A leishmaniose tegumentar (L.T.) pode ser causada por várias espécies da *Leishmania*, dentre estas *L. (Viannia) braziliensis* e *L. (Leishmania) amazonensis*, que são aquelas consideradas dentre as tegumentares, as mais comuns no território brasileiro, mesmo assim em comparação com a leishmania visceral, este tipo de patogenia não é muito frequentemente diagnosticada em cães. Possuem o mesmo ciclo biológico das outras Leishmanias, onde ocorre a infecção em macrófagos, assim

como é frequentemente encontrada em linfonodos e medula óssea (DORVAL *et al.*, 2006; SILVEIRA *et al.*, 2008; TRIGO *et al.*, 2021).

A leishmania tegumentar tem grande importância devido a ser considerada uma das endemias de importância brasileira, principalmente por serem um tipo que pode acometer humanos, principalmente homens, pois estes se aproximam de matas fechadas e locais mais propícios a espécie com mais frequência, mas devido ao predomínio de *L. infantum*, que não acomete humanos, existe uma competição por vetores e transmissores, logo, as espécies que transmitem L.T. têm certa dificuldade em se propagar (DORVAL *et al.*, 2006; GUIMARÃES *et al.*, 2005; FIGUEIRA *et al.*, 2014).

Outro aspecto importante desta leishmaniose, é que ela não acomete apenas da maneira mais simples, mas ela também pode acometer seres humanos, principalmente do sexo masculino e animais em outras duas maneiras consideradas graves, a leishmaniose cutâneo mucosa (LCM), na qual a maior parte dos casos deste tipo é relacionada a *L. (V.) braziliensis* e, a leishmaniose cutânea anérgia difusa (LCAD) que está principalmente relacionada a espécie *L. (L.) amazonensis*, que nesta normalmente os pacientes apresentam apenas uma lesão, essas duas formas são consideradas graves, pois há uma dificuldade relacionada a cura. (SILVEIRA *et al.*, 2008; *FIGUEIRA et al.*, 2014)

3.3 EXAMES E TESTES DE DIAGNÓSTICO.

Hoje em dia existem diversas maneiras de se chegar a um diagnóstico laboratorial, e se tratando de hemoparasitoses como a *Leishmania spp.*, temos a análise microscópica em esfregaços de sangue, e também através de pesquisas de antígenos e/ou anticorpos. São disponibilizados no mercado vários tipos de testes, visto que cada um demonstra um nível de sensibilidade e especificidade diferente para cada tipo de situação, então é necessário sempre ter conhecimento de quais são os mais indicados de acordo com cada situação e com cada hemoparasita (GAZZINELLI, 2015; BRUM & CARVALHO, 2022).

3.3.1 Esfregaço de Sangue Periférico

Esfregaços sanguíneos são um dos principais métodos de diagnóstico laboratorial de hemoparasitas, podendo ser confeccionado de diversas formas e corado com métodos variados, sendo o método de coloração *Diff-Quick* (panótico rápido) o mais utilizado (FERREIRA *et al*., 2021).

É considerado parte importante do exame hematológico completo, pois permite avaliar o estado de saúde do animal microscopicamente, no qual pode-se visualizar diferentes alterações celulares, sejam fisiológicas ou patológicas, (SILVA & MONTEIRO, 2016; MEINKOTH, 2020). Durante esse processo também é feita a pesquisa de hemoparasitas, realizada na franja, a parte final do esfregaço, na qual pode levar a um diagnóstico conclusivo caso haja visualização de microorganismos, como a exemplo deste trabalho, *Leishmania spp.* que, apesar de ser considerada um achado raro em esfregaços de sangue periférico quando há infecção presente, pode ser encontrada parasitando neutrófilos, monócitos ou soltas em fundo de lâmina (Figura 3) (GAZZINELLI, 2015; WEISER, 2015; ZABOLOTZKY & WALKER, 2020).

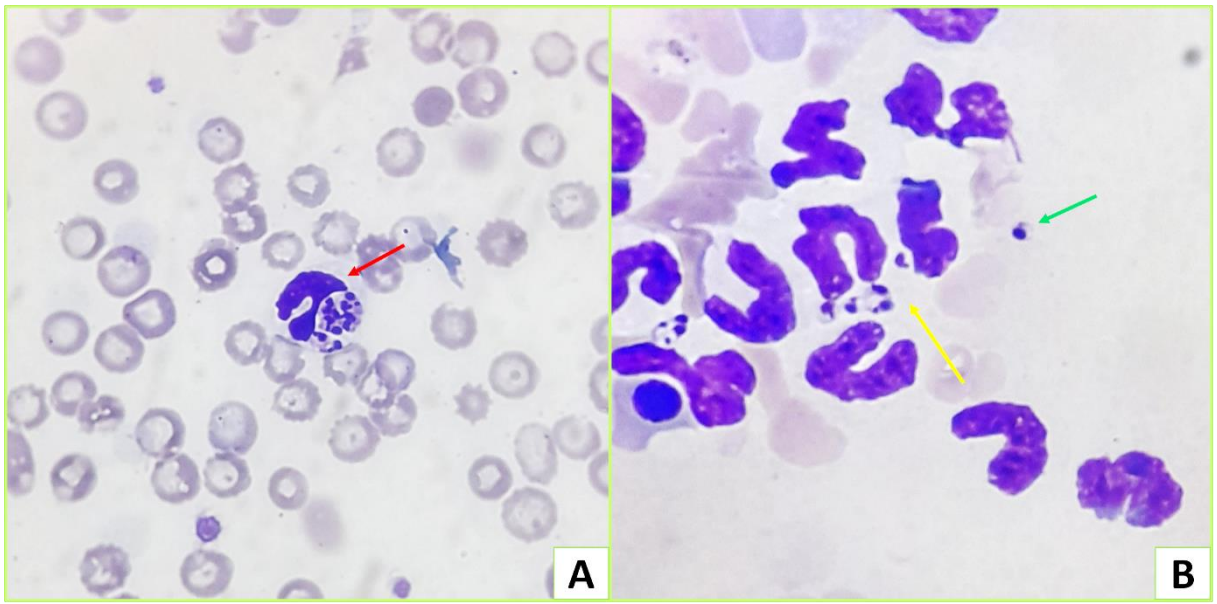


Figura 3. Esfregaço de sangue periférico de cão. **A:** neutrófilo contendo organismos *Leishmania spp.* (seta vermelha), **B:** monócito contendo vários organismos *Leishmania spp.* (seta amarela) podendo também ser observado uns organismos *Leishmania spp.* soltas em fundo de lâmina (seta verde) (arquivo pessoal). (aumento da observação em 1000x, com objetiva de 100x, coloração de *Diff-Quick*).

3.3.2 Citologias

O diagnóstico citológico se fundamenta na visualização das formas amastigotas de *Leishmania spp.* por meio de análises citológicas microscópicas, podendo ser coradas com *Diff-Quick* e May Grunwald-Giemsa, visto que este último fornece tons e contrastes melhores, auxiliando uma melhor visualização da morfologia dos hemoparasitas. Essas citologias são realizadas normalmente através do método de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) ou biópsia por agulha fina (BAF) (WEISER, 2015; BLAUVELT & MESSICK, 2020).

O local mais utilizado para o diagnóstico é pela punção de linfonodos (Figura 4), sendo ultilizado normalmente linfonodos mais superficiais e de fácil acesso, como o linfonodo submandibular. É um método de diagnóstico rotineiramente muito utilizado por médicos veterinários por ser um método mais prático, rápido e pouco traumático, se tornando um exame clinico necessário para o diagnóstico de *Leishmania spp.* em cães (FURTADO *et al.*, 2011; DIAS *et al.*, 2019).

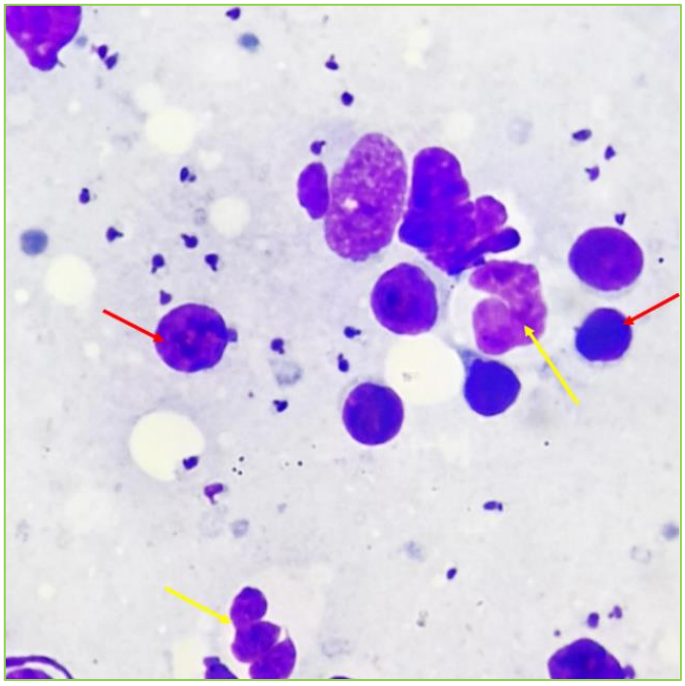


Figura 4. Citologia de linfonodo pré-escapular de cão, apresentando linfócitos (setas vermelhas) e alguns neutrófilos (seta amarela), contendo vários organismos *Leishmania sp.* soltas em fundo de lâmina (arquivo pessoal). (aumento da observação em 1000x, com objetiva de 100x, coloração de May Grunwald-Giemsa)

Outro local, muito comum de se encontrar amastigotas, é na medula óssea, que podem ser observados em citologias ou durante mielogramas, mas podem também serem encontradas em esfregaços de outros tecidos como o baço, conjuntiva, fígado e pele (Figura 5) que são locais mais intensamente parasitados, além dos nódulos cutâneos (THRALL & WEISER, 2015).

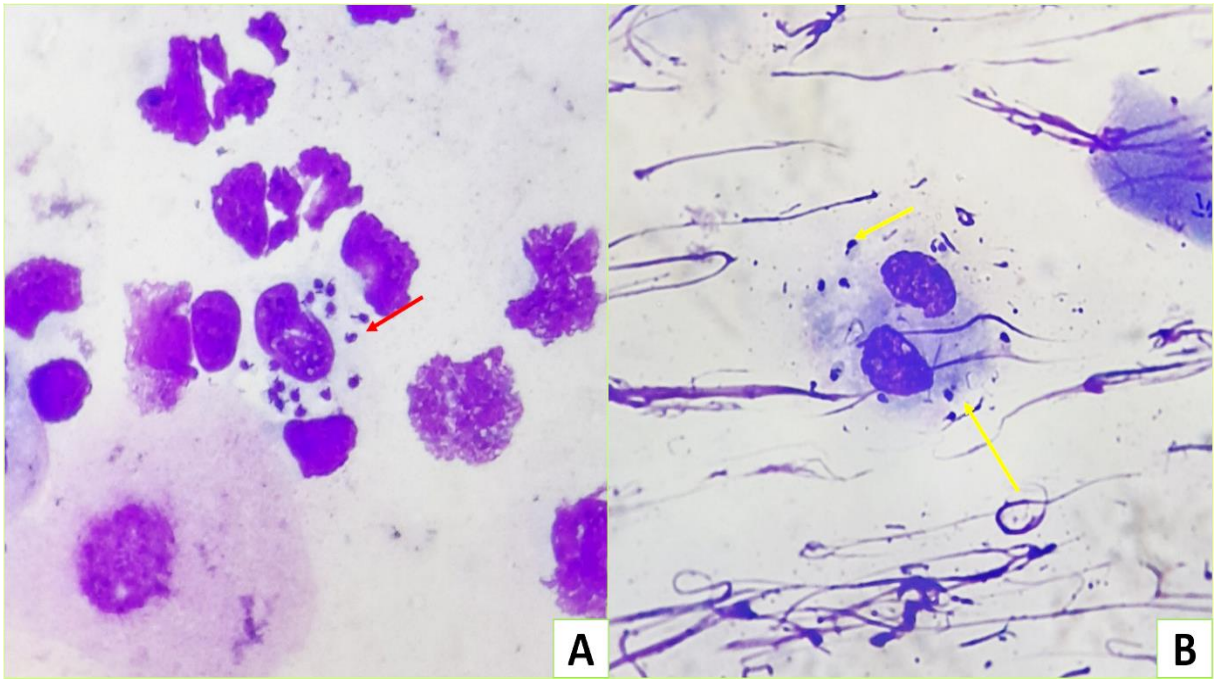


Figura 5. A: Citologia de conjuntiva de cão, apresentando macrófagos contendo vários organismos *Leishmania sp.* (seta vermelha), **B:** Citologia de lesão cutânea ulcerada de cão, apresentando macrófago contendo vários organismos *Leishmania sp.* (setas amarelas) (arquivo pessoal). (aumento da observação em 1000x, com objetiva de 100x, coloração de May Grunwald-Giemsa)

Por ser um método mais barato de diagnóstico, muitas vezes ajudam o médico veterinário antes da realização de testes sorológicos, sendo que aqueles corados por Giemsa associados a exames de PCR, conclui o caso, com um diagnóstico mais preciso (CAEIROS, 2012; DÓRIA *et al*., 2015).

3.3.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

O PCR é um dos diagnósticos moleculares mais precisos, ja que ele é feito para patógenos específicos, mesmo após dias à infeção. Ele usa do DNA ou RNA presente para realizar a identificação, no caso da *Leishmania sp.*, utiliza-se do DNA presente, assim tendo uma maior sensibilidade e precisão para identificar hemoparasitoses, tornando-se assim um método mais convencional, já que não seria obrigatoriamente necessário o uso de métodos associados, para chegar num diagnóstico preciso quando positivo (RAHMAN *et al.*, 2013; GUIMARÃES, 2019; TAYYUB *et al.*, 2019).

3.3.4 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

É um teste de quantificação, que está entre os mais utilizados para a identificação e titulação de *Leishmania sp.* é um exame indireto, que vai detectar a inflamação através de anti-corpos, avaliado como reagente em casos que os valores encontrados estejam acima do ponto de corte da diluição, sendo na diluição 1:160. Nem sempre é um exame que apresentará um diagnóstico preciso, devido a alguns fatores, como o de ter risco de ocorrer falso positivo por presença de hemólise da amostra, casos de soroconversão, ou por reação cruzada com outros hemoparasitas como *Ehrlichia sp., Babesia sp., Anaplasma sp. e Trypanossoma sp.*, sendo assim necessário que se tenha além dos resultados dados pelo RIFI, associar com achados laboratoriais específicos e outros métodos diagnósticos complementares (TÁVORA, 2007; BORGES, 2019; FINAMORE, 2020).

Normalmente, é realizado em associação ao teste de ELISA, visto que cada tipo de teste tem vantagens e desvantagens, além de auxiliar na determinação de casos em que esteja passando por tratamento para verificar se o tratamento está sendo eficaz. Assim estes dois servem para se complementarem e enfim diminuir as chances de que haja um falso positivo por reação cruzada. Este teste é feito com base nas reações de fluorescência nas amostras diluídas ao ocorrer ligações entre os

anticorpos e os antígenos adicionados posteriormente (EVARISTO *et al.*, 2021; *MOTTA et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022).

3.3.5 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)

Estes ensaios são usados principalmente como triagem, para depois realizar a RIFI para auxiliar no diagnóstico. Nestes dois testes, visto que são muitas vezes realizados em conjunto, e levando em conta que pode haver reação cruzada com outras hemoparasitoses, estão entre os mais empregados nas rotinas de hospitais e clinicas veterinárias, (COSTA *et al.*, 2020; PAIVA, 2021).

O estado fisiológico do cão é um fator que pode interferir nos resultados do teste ELISA, visto que mesmo que este teste tenha uma maior sensibilidade, o estado corporal do animal resultara em uma quantidade de anticorpo variável presente, prejudicando a confirmação do diagnóstico de leishmaniose (FARIA & ANDRADE, 2012; TORTOLA *et al.*, 2023).

Assim como no teste sorológico da RIFI, o foco é realizar a detecção de anticorpos que estão presentes no soro, no qual serão utilizados poços com presença de antígenos solúveis de *Leishmania major-like* ao fundo de cada um, que ao entrarem em contato com o soro da amostra, em casos de presença de anticorpo, haverá uma reação com compostos cromógenos, que por meio de um aparelho de espectrofotometria, será feita a leitura da absorbância da densidade ótica (D.O.) de cada amostra, buscando um sinal indicativo da reação antígeno-anticorpo, e enfim chegar num resultado reagente ou não-reagente *Leishmania spp.* (MOTTA *et al.*, 2021; VALERY, 2022;).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa é caráter documental, realizada com base em exames hematológicos de estudos de cães com Leishmanioses, captados de publicações disponíveis a acesso na rede de internet e também com base em exames hematológicos de cães realizados pelo Centro Especializado em Análises Veterinárias (CEAV).

4.1 LOCAL

Os exames hematológicos avaliados foram filtrados de um Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, situado em Campo Grande – MS.

4.2 REFERENCIAL TEÓRICO

Foram selecionados os estudos que apresentem os exames hematológicos e bioquímicos de cães com Leishmaniose comprovada através do achado do agente em pesquisa de esfregaço sanguíneo ou por meio de testes sorológicos e exames moleculares, sem sofrer quaisquer critérios de seleção quanto à língua o qual foram publicados e nem à nacionalidade a que pertenciam, ampliando assim a gama de resultados.

4.3 POPULAÇÃO ALVO

Foram selecionados e analisados, exames de 90 cães realizados pelo Centro Especializado em Análises Veterinárias (CEAV) durante o período correspondente de janeiro de 2023, a setembro de 2023, tendo como foco animais que tiveram

confirmação diagnóstica através de achados em esfregaço sanguíneo, exames citológicos, histológicos e PCR, e também animais que foram reagentes a testes sorológicos de ELISA e RIFI.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo teve como foco animais que tiveram confirmação diagnóstica de leishmaniose através de achados em esfregaço sanguíneo, exames citológicos, histológicos e PCR, e também animais que foram reagentes a testes sorológicos de ELISA e RIFI (Tabela 1). Dos exames selecionados, foram filtrados aqueles que continham hemograma e exames bioquímicos obrigatoriamente, e para uma maior avaliação de alterações, esses resultados foram separados em eritrograma e plaquetograma (Tabela 2), leucograma (Tabela 3), Microscopia (Tabela 4), bioquímicos e proteínas (Tabela 5), estando todos dispostos a seguir.

Tabela 1: Percentual (%) de animais que tiveram confirmação diagnóstica de leishmaniose em cada método de Diagnóstico.

Método de diagnóstico	Total	Total %*
Citologia	2	2,22%
Parasitológico (linfonodo)	2	2,22%
ELISA+RIFI	63	70,00%
ELISA	11	12,22%
RIFI	2	2,22%
Mielograma	0	0,00%
PCR	4	4,44%
Histologia	1	1,11%
Pesquisa de hemoparasitas	8	8,88%

Legenda: ELISA = Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*; RIFI = Reação de Imunofluorescência Indireta; PCR = Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês *Polymerase Chain Reaction*.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães).

Tabela 2: Alterações em eritrograma e plaquetograma encontradas a partir dos dados dos exames.

		TOTAL	Total %*
RBC (%)	**<Ref**	48	53,33%
	>Ref	1	1,11%
Hb (%)	**<Ref**	46	51,11%
	>Ref	3	3,33%
Ht (%)	**<Ref**	46	51,11%
	>Ref	2	2,22%
VCM/VGM (%)	**<Ref**	3	3,33%
	>Ref	1	1,11%
CHGM (%)	**<Ref**	0	0,00%
	>Ref	2	2,22%
Plaquetas (%)	**<Ref**	32	35,55%
	>Ref	6	6,66%

Legenda: RBC = Eritrócitos, do inglês *Red Blood Cell*; Hb = Hemoglobina; Ht = Hematócrito; VCM/VGM = Volume Corpuscular Médio/Volume Globular Médio; CHCM = Concentração de Hemoglobina Globular Média; <Ref = Valor abaixo da referência usada em cada exame; >Ref= Valor acima da referência usada por cada exame.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães).

Tabela 3: Alterações encontradas no leucograma, a partir dos dados coletados dos exames.

		TOTAL	Total %*
WBC	**<Ref**	16	17,77%
	>Ref	11	12,22%
NØB**	**>Ref**	3	3,33%
NØS	**<Ref**	15	16,66%
	>Ref	30	33,33%
LØ	**<Ref**	26	28,88%
	>Ref	18	20,00%
MØ	**<Ref**	42	46,66%
	>Ref	5	5,55%
EØ	**<Ref**	23	25,55%
	>Ref	12	13,33%
BØ**	**>Ref**	0	0,00%

Legenda: WBC = Leucócitos, do inglês *White Blood Cell*; NØB = Neutrófilos Bastonetes; NØS = Neutrófilos Segmentados; LØ = Linfócitos; EØ = Eosinófilos; MØ = Monócitos; BØ = Basófilos; <Ref = Valor abaixo da referência usada por cada exame; >Ref = Valor acima da referência usada por cada exame.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães).
**= Estes itens não possuem "<Ref" pois o valor mínimo, é dentro da normalidade, independente da referência do estudo, é "0" (zero).

Tabela 4: Alterações observadas microscopicamente, encontradas a partir dos dados dos exames.

Alterações observadas	Total	Total %*
	90	100%
Rouleaux	38	42,22%
Agregados plaquetários	28	31,11%
Anisocitose	14	15,56%
Monócitos ativados	11	12,22%
Policromasia	12	13,33%
Macroplaquetas	10	11,11%
Neutrófilos hipersegmentados	8	8,89%
Linfócitos reacionais	4	4,44%
Neutrófilos tóxicos	2	2,22%
Corpúsculo de howell-jolly	2	2,22%
MN com tendência à macrófago	1	1,11%
Excentrócitos	1	1,11%
Codócitos	1	1,11%

Legenda: MN = Monócito.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães).

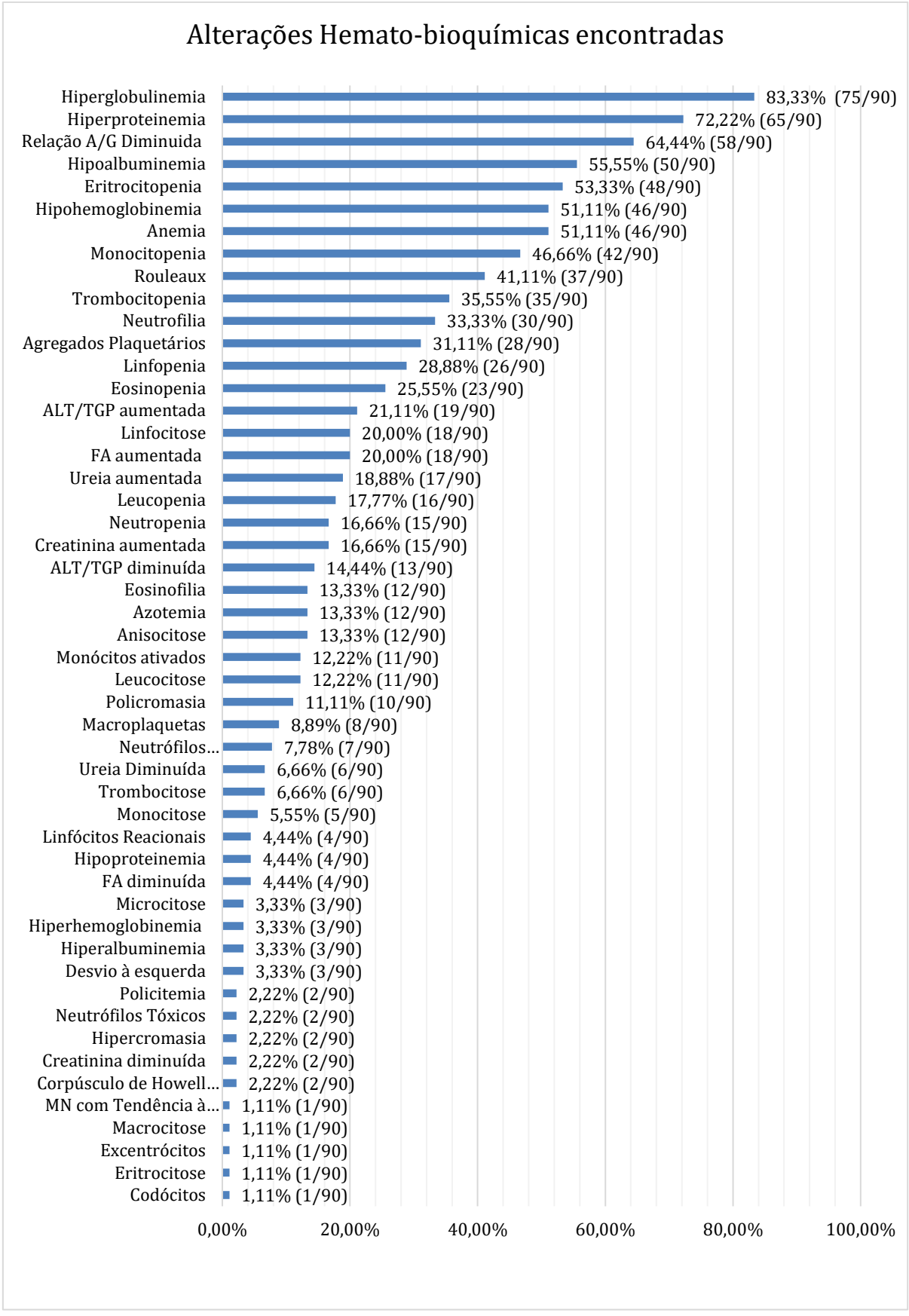
Tabela 5: Alterações em bioquímicos e proteínas encontradas a partir dos dados dos exames.

		TOTAL	Total %*
ALT/TGP	**<Ref**	13	14,44%
	>Ref	19	21,11%
FA	**<Ref**	4	4,44%
	>Ref	18	20,00%
UR	**<Ref**	6	6,66%
	>Ref	17	18,88%
CR	**<Ref**	2	2,22%
	>Ref	15	16,66%
Azotemia		12	13,33%
PT	**<Ref**	4	4,44%
	>Ref	65	72,22%
ALB	**<Ref**	50	55,55%
	>Ref	3	3,33%
GLOB	**<Ref**	0	0,00%
	>Ref	75	83,33%
A/G	**<Ref**	58	64,44%
	>Ref	0	0,00%

Legenda: ALT/TGP = Alanina Aminotransferase/transaminase glutâmico-pirúvica; FA = Fosfatase Alcalina; U = Uréia; CR = Creatinina; PT = Proteína; ALB = Albumina; GLOB = Globulina; A/G = Relação Albumina:Globulina; <Ref = Valor abaixo da referência usada em cada exame; >Ref= Valor acima da referência usada por cada exame. *O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães).

Com estes dados dispostos, foi possível montar um gráfico (Gráfico 1) que aponta a frequência com que ocorreram as alterações hematológicas e bioquímicas encontradas durante o estudo, de modo geral e decrescente, aparecendo aquelas que mais tiveram ocorrência das que tiveram menos.

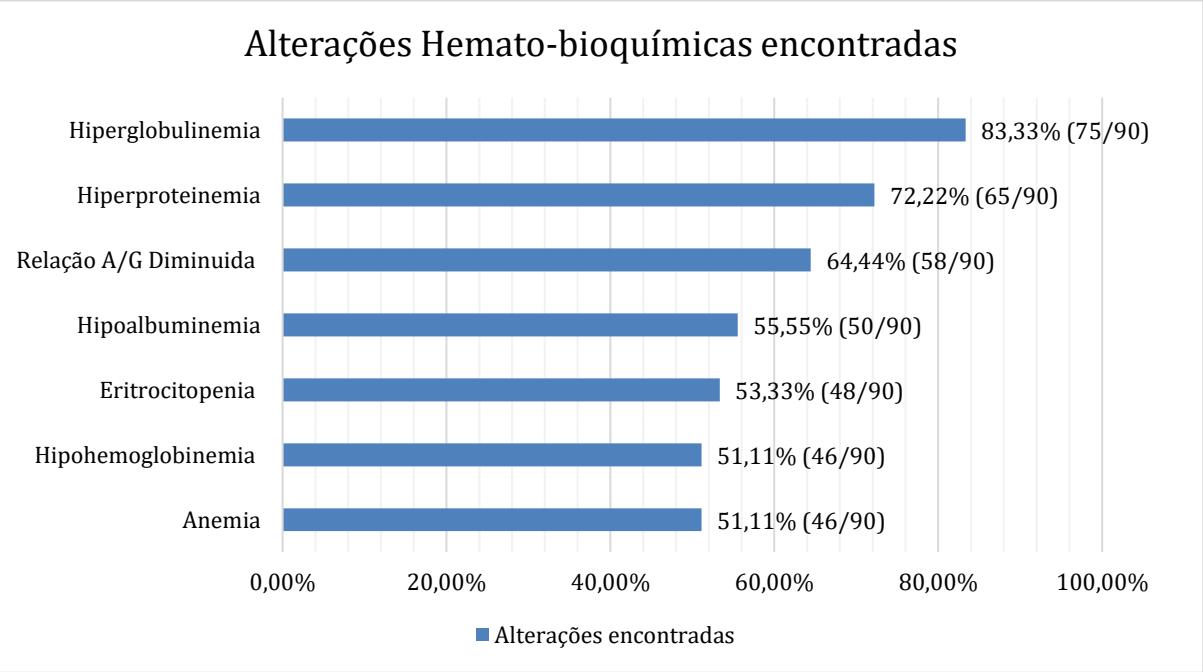
Gráfico 1: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica no estudo.



Legenda: A/G = Relação Albumina:Globulina; ALT/TGP = Alanina Aminotransferase/transaminase glutâmico-pirúvica; FA = Fosfatase Alcalina; MN = Monócito; % = o cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães); (X/90) = representam a quantidade de exames de animais que a alteração apareceu, para a quantidade total de exames realizadas no estudo.

Tendo como base estes dados primários, foi montado outro gráfico (Gráfico 2), que neste vai elencar as alterações ocorridas em 50% (cinquenta por cento) ou mais de alterações observadas em cada exame dos animais usados no estudo para assim poder obter resultados mais fidedignos. Visto que, indicará que 50% ou mais exames realizados em animais com suspeita de leishmaniose, apontara estas mesmas alterações (OLIVEIRA, 2001; REIS, 2019; ZANELLA, 20--).

Gráfico 2: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica em pelo menos 50% ou mais, dos exames hematológicos no estudo.



Legenda: A/G = Relação Albumina:Globulina; % = o cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 cães); (X/90) = representam a quantidade de exames de animais que a alteração apareceu, para a quantidade total de exames realizadas no estudo.

Após elencar estes dados, foi possível observar pelo gráfico 1 e 2, que as alterações de hiperglobulinemia, hiperproteinemia, relação albumina:globulina (A/G), hipoalbuminemia, eritrocitopenia, hipohemoglobinemia e anemia estão presentes em pelo menos 50% dos casos, (75/90, 65/90, 58/90, 50/90, 48/90, 46/90 e 46/90 respectivamente) sendo que foram observadas com uma frequência de 83,33% (75/90), 72,22% (65/90), 64,44% (58/90), 55,55% (50/90), 53,33% (48/90), 51,11%

(46/90) e 51,11% (46/90) respectivamente, não sendo possível afirmar que alguma dessas alterações tenham uma prevalência de 100% nos casos diagnosticados com leishmaniose.

5.1 ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NOS EXAMES QUE TIVERAM DIAGNÓSTICO CONFIRMATÓRIO

Assim como demonstrado na tabela 1, foram vários os métodos de diagnósticos utilizados, sendo que 84,44% (76/90) destes foi através de testes sorológicos ELISA e RIFI, que não são considerados como confirmatórios, tendo em vista que eles agem detectando a presença de anticorpos *anti-leishmania* no organismo do animal, o que não garante que este microrganismo estava ou não presente no animal, no momento em que os exames foram realizados, assim como podem haver falsos positivos, com reação cruzada com outras hemoparasitose e em amostras hemolisadas (EVARISTO *et al.*, 2021; MOTTA *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022).

Dos resultados elencados 17,77% (16/90), apresentaram confirmação diagnóstica por alguns dos métodos descritos (Tabela 6), sendo que alguns destes foram realizados como complementares aos testes de RIFI e ELISA. Assim foram separados em eritrograma e plaquetograma (Tabela 7), leucograma (Tabela 8), Microscopia (Tabela 9), bioquímicos e proteínas (Tabela 10), sendo todos dispostos a seguir.

Tabela 6: Percentual (%) de animais que tiveram confirmação diagnóstica de leishmaniose, em cada método de diagnóstico confirmatório.

Método de diagnóstico	Total	Total %*
Citologia	2	12,5%
Parasitológico (linfonodo)	2	12,5%
PCR	4	25%
Histologia	1	6,25%
Pesquisa de hemoparasitas	8	50%

Legenda: PCR = Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês *Polymerase Chain Reaction*.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães).

Tabela 7: Alterações em eritrograma e plaquetograma encontradas a partir dos dados dos exames com diagnóstico confirmatório.

		TOTAL	Total %*
		16	100%
RBC (%)	**<Ref**	13	81,25%
	>Ref	0	0,00%
Hb (%)	**<Ref**	13	81,25%
	>Ref	0	0,00%
Ht (%)	**<Ref**	13	81,25%
	>Ref	0	0,00%
VCM/VGM (%)	**<Ref**	1	6,25%
	>Ref	0	0,00%
CHCM (%)	**<Ref**	0	0,00%
	>Ref	0	0,00%
Plaquetas (%)	**<Ref**	8	50,00%
	>Ref	0	0,00%

Legenda: RBC = Eritrócitos, do inglês *Red Blood Cell*; Hb = Hemoglobina; Ht = Hematócrito; VCM/VGM = Volume Corpuscular Médio/Volume Globular Médio; CHCM = Concentração de Hemoglobina Globular Média; <Ref = Valor abaixo da referência usada em cada exame; >Ref= Valor acima da referência usada por cada exame.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães).

Tabela 8: Alterações encontradas no leucograma, a partir dos dados coletados dos exames com diagnóstico confirmatório.

		TOTAL	Total %*
		16	100%
WBC	**<Ref**	5	31,25%
	>Ref	2	12,50%
NØB**	**>Ref**	1	6,25%
NØS	**<Ref**	1	6,25%
	>Ref	7	43,75%
LØ	**<Ref**	5	31,25%
	>Ref	2	12,50%
MØ	**<Ref**	6	37,50%
	>Ref	1	6,25%
EØ	**<Ref**	7	43,75%
	>Ref	0	0,00%
BØ**	**>Ref**	0	0,00%

Legenda: WBC = Leucócitos, do inglês *White Blood Cell*; NØB = Neutrófilos Bastonetes; NØS = Neutrófilos Segmentados; LØ = Linfócitos; EØ = Eosinófilos; MØ = Monócitos; BØ = Basófilos; <Ref = Valor abaixo da referência usada por cada exame; >Ref = Valor acima da referência usada por cada exame.

*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães).
**= Estes itens não possuem "<Ref" pois o valor mínimo, é dentro da normalidade, independente da referência do estudo, é "0" (zero).

Tabela 9: Alterações observadas microscopicamente, encontradas a partir dos dados dos exames com diagnóstico confirmatório.

Alterações observadas	TOTAL	Total %*
	16	100%
Rouleaux	11	68,75%
Agregados plaquetários	6	37,50%
Anisocitose	3	18,75%
Monócitos ativados	6	37,50%
Policromasia	3	18,75%
Macroplaquetas	0	0,00%
Neutrófilos hipersegmentados	4	25,00%
Linfócitos reacionais	1	6,25%
Neutrófilos tóxicos	2	12,50%
Corpúsculo de howell-jolly	1	6,25%
MN com tendência à macrófago	0	0,00%
Excentrócitos	0	0,00%
Codócitos	0	0,00%

Legenda: MN = Monócito.
*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães).

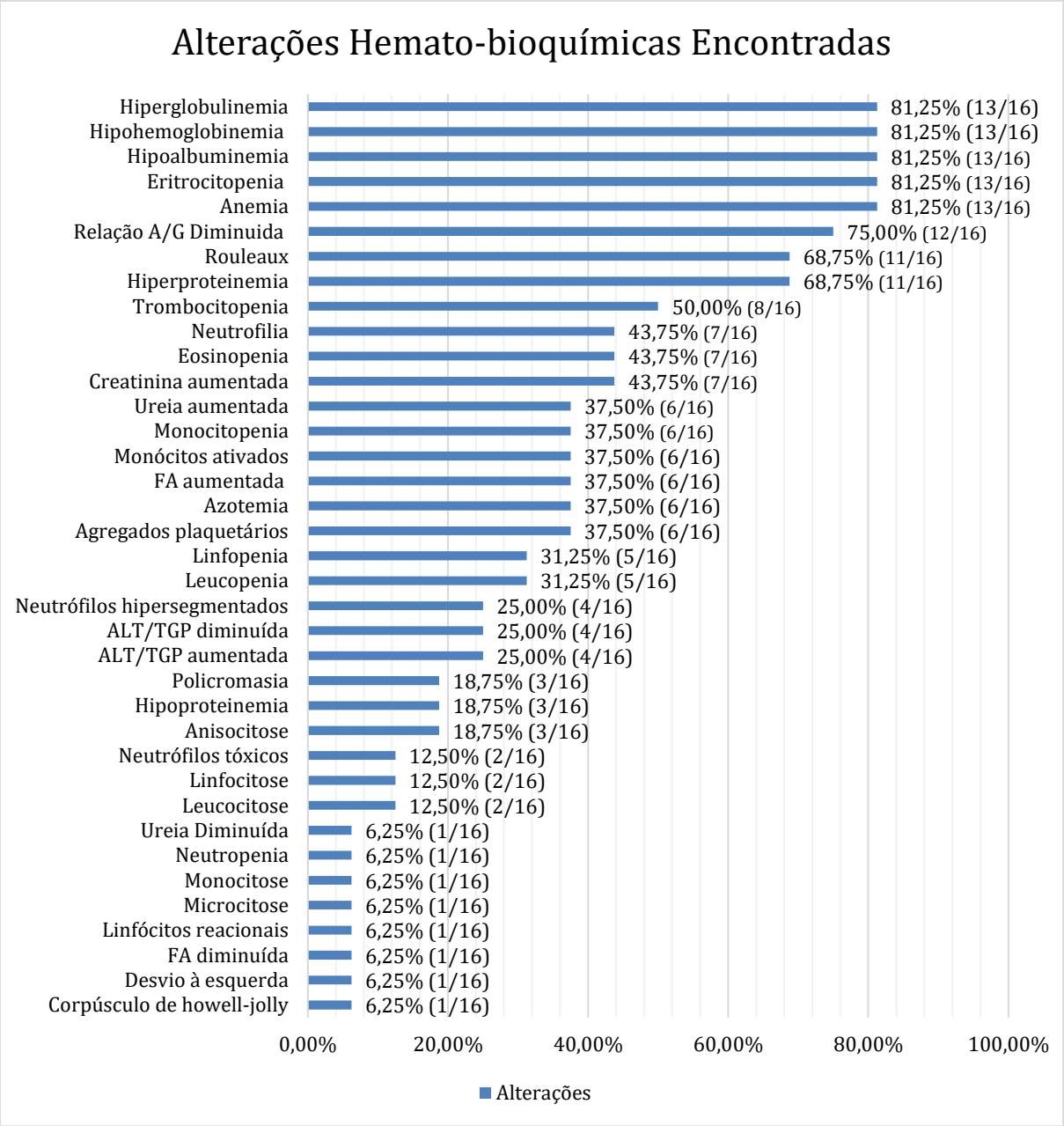
Tabela 10: Alterações em bioquímicos e proteínas encontradas a partir dos dados dos exames com diagnóstico confirmatório.

		Total	Total %*
		16	100%
ALT	**<Ref**	4	25,00%
	>Ref	4	25,00%
FA	**<Ref**	1	6,25%
	>Ref	6	37,50%
URE	**<Ref**	1	6,25%
	>Ref	6	37,50%
CREAT	**<Ref**	0	0,00%
	>Ref	7	43,75%
Azotemia		6	37,5%
PT	**<Ref**	3	18,75%
	>Ref	11	68,75%
ALB	**<Ref**	13	81,25%
	>Ref	0	0,00%
GLOB	**<Ref**	0	0,00%
	>Ref	13	81,25%
A/G	**<Ref**	12	75,00%
	>Ref	0	0,00%

Legenda: ALT/TGP = Alanina Aminotransferase/transaminase glutâmico-pirúvica; FA = Fosfatase Alcalina; U = Uréia; CR = Creatinina; PT = Proteína; ALB = Albumina; GLOB = Globulina; A/G = Relação Albumina:Globulina; <Ref = Valor abaixo da referência usada em cada exame; >Ref= Valor acima da referência usada por cada exame. *O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães).

Com estes novos dados dispostos foi possível montar um gráfico (Gráfico 3) que demonstra a frequência com que ocorreram as alterações hemato-bioquímicas encontradas no estudo, aparecendo primeiro aquelas que mais tiveram ocorrência seguido das que tiveram menor frequência.

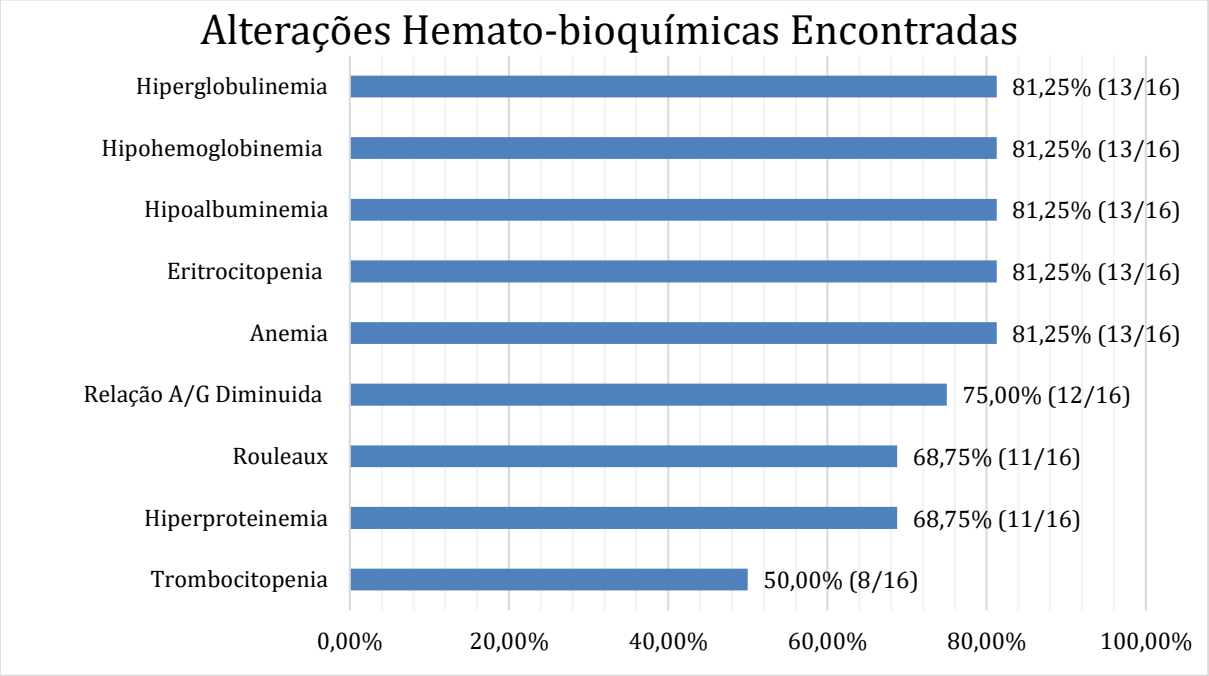
Gráfico 3: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica no estudo.



Legenda: A/G = Relação Albumina:Globulina; ALT/TGP = Alanina Aminotransferase/transaminase glutâmico-pirúvica; FA = Fosfatase Alcalina; MN = Monócito; % = o cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães); (X/16) = representam a quantidade de exames de animais que a alteração apareceu, para a quantidade total de exames realizadas no estudo.

Assim como realizado na primeira parte do estudo, com os dados apresentados pelo gráfico 3, foi montado outro gráfico (Gráfico 4), que neste também, será selecionado, aquelas alterações que ocorreram em pelo menos 50% (cinquenta por cento) das alterações observadas em cada um dos exames elencados nesta segunda parte do estudo, para obtenção de resultados mais precisos.

Gráfico 4: Porcentagem (%) da frequência de ocorrência de cada alteração hemato-bioquímica em pelo menos 50% ou mais, dos exames hematológicos no estudo.



Legenda: A/G = Relação Albumina:Globulina; % = o cálculo da porcentagem foi no total de amostras (16 cães); (X/90) = representam a quantidade de exames de animais que a alteração apareceu, para a quantidade total de exames realizadas no estudo (X/16) = representam a quantidade de exames de animais que a alteração apareceu, para a quantidade total de exames realizadas no estudo.

Com todos estes dados elaborados, é possível observar que se teve um aumento na quantidade de patogenias encontradas com frequência de 50% dos exames elencados, no qual no gráfico 4 as alterações rouleaux 68,75% (11/16) e trombocitopenia 50% (8/16) estão presentes, alterações estas que não foram selecionadas no resultado da primeira parte do estudo.

Assim como na primeira parte do estudo, neste segundo, foram também encontradas hiperglobulinemia, hipohemoglobinemia, hipoalbuminemia, eritrocitopenia, anemia, diminuição na relação A/G e hiperproteinemia, no qual se encontram presentes em pelo menos 50% dos casos de leishmaniose, sendo observadas com uma frequência de 81,25% (13/16), 81,25% (13/16), 81,25% (13/16), 81,25% (13/16), 81,25% (13/16), 75% (12/16) e 68,75% (11/16) respectivamente, mas novamente não foi possível chegar num resultado em que se possa afirmar que alguma dessas alterações tenham uma prevalência de 100% nos casos diagnosticados com leishmaniose.

Durante o estudo foi possível observar, que principal alteração encontrada foi o aumento das proteínas séricas, no qual ocorreu uma hiperproteinemia em 72,22% (65/90) dos casos na primeira parte do estudo, e em 68,75% (11/16) na segunda parte do estudo, este aumento da síntese proteica, normalmente ocorre devido a uma inflamação crônica, que normalmente presente na fase aguda da leishmaniose. (STOCKHAM & SCOTT, 2011e; SKELDON & RISTIC, 2016).

As globulinas podem ser classificadas como alfaglobulinas, betaglobulinas e gamaglobulinas, desde o início da inflamação já ocorre o aumento de proteínas, visto que fibrinogênio e globulinas, principalmente imunoglobulinas, são abundantes em inflamações. Em casos como da leishmaniose, essa abundancia ocorre desde antes do pico da infecção, no qual incialmente ocorre um leve aumento de proteínas da fase aguda negativa como a albumina, além de proteínas da fase aguda positiva como alfaglobulinas, betaglobulinas e imunoglobulinas (FREEMAN & KLENNER, 2015; GREENE, 2015).

No pico da infecção além do aumento que já ocorre de certas proteínas, ocorre um grande aumento de proteínas da fase aguda positiva, no caso das hipergamaglobulinemia (hiperglobulinemia), sendo ela policlonal ou monoclonal, devido a uma resposta imune, ocorrendo o estimulo do antigênico por parte da *Leishmania sp*. que estimula a liberação de certas citosinas como as interleucinas que faz com que se tenha um aumento da síntese proteica pelos hepatócitos, ocorrendo assim uma liberação de proteína em excesso (FREEMAN & KLENNER, 2015; GREENE, 2015)

Com o aumento da síntese proteica há desequilíbrio nas proteínas do sangue (albumina e globulina), que foi apontado na relação A/G com prevalência de 64,44% (58/90) na primeira parte do estudo e em 75% (12/16) dos casos na segunda parte do estudo, pois essa relação está diretamente ligada as infecções, pois está havendo interferência na concentração das gamaglobulinas (FREEMAN & KLENNER, 2015). Igualmente como nas gamaglobulinas, há um estímulo por parte dos antígenos da *Leishmania* sp., concomitantemente estes atuarão na diminuição sérica de albumina e aumento sérico de globulina (ZAVALA-CASTRO *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2011).

Com a diminuição nos níveis séricos de albumina, leva a uma hipoalbuminemia, que apareceu em 55,55% (50/90) dos casos na primeira parte do estudo, e em 81,25% (13/16) dos casos da segunda parte do estudo, e um aumento dos níveis séricos de globulina, levando a uma hiperglobulinemia em 83,33% (75/90) na primeira parte do

estudo e 81,25% (13/16) na segunda parte do estudo. Esta hiperglobulinemia associada a albumina pode estar relacionada a algum tipo de perda de água plasmática (desidratação), fator este, que devido a região ser de cima tropica, e assim um ambiente com temperaturas mais elevadas, nem sempre se pode estar associando esta perda de água plasmática a leishmaniose. Já quando em casos de hiperglobulinemia grave, pode afetar a função renal, por meio de uma síndrome de hiper viscosidade comprometendo-o e com isso ocorre uma proteinúria renal que vai contribuir para uma maior perda de albumina, levando o animal a uma hipoalbuminemia. (EVANS, 2011; ALLISON, 2015b)

A hipoalbuminemia, também pode ocorrer devido a perda de albumina, que ocorre em processos inflamatórios, como na leishmaniose que acarreta uma inflamação crônica, a hipoalbuminemia é considerada comum juntamente com a hiperglobulinemia, além de também estas, podem ocorrer de modo concomitante a hiperproteinemia devido as gamaglobulinas anteriormente ja citado (OCHOA, 2007; LAUS *et al.*, 2016).

Outra proteína afetada pela leishmaniose é a hemoglobina, afetando diretamente seus níveis no sangue periférico causando uma hipohemoglobinemia como visto em 51,11% (46/90) dos dados selecionados nos exames da primeira parte do estudo e em 81,25% (13/16) na segunda parte do estudo, isto ocorre, pois alguns patógenos como a *Leishmania sp.*, utilizam de ferro para seu metabolismo, e a leishmania tem uma grande necessidade devido a suas enzimas serem altamente dependentes de ferro (MALAFAIA, 2008).

A hemoglobina é a primeira a ser atacada por estas enzimas, já que nela existe ferro para auxiliar na oxidação de componentes e transporte de oxigênio, com isso para impedir que os microorganismos utilizem esse mineral, o organismo do animal sequestra hemoglobina no baço, indisponibilizando esse ferro, e assim acontecendo uma diminuição sérica da hemoglobina, como também uma possível deficiência por ferro no animal levando a uma anemia ferropriva (SANTARÉM, 2006; NUNES, 2015).

Apesar de que na primeira parte do estudo demonstrou presença de Rouleaux em apenas 42,22% (38/90), na segunda parte do estudo demonstrou uma frequência de 68,75% (11/16). O Rouleaux, também conhecido como “pilha de moedas”, ocorre em razão ao aumento de níveis de proteínas no sangue, pois com isso existe o aumento da proximidade dos eritrócitos o que leva elas a estarem juntas espontaneamente uma do lado da outra, e é normalmente observado em microscopia,

consistindo no posicionamento dos eritrócitos espontaneamente, um em cima do outro (Figura 6), comum de ser achado em hemogramas de animais que contem leishmania, tendo em vista que esta normalmente causa um aumento no nível de proteína sérica do animal (RODRÍGUEZ, 2008; ALLISON, 2015b; NASCIMENTO *et al.*, 2021).

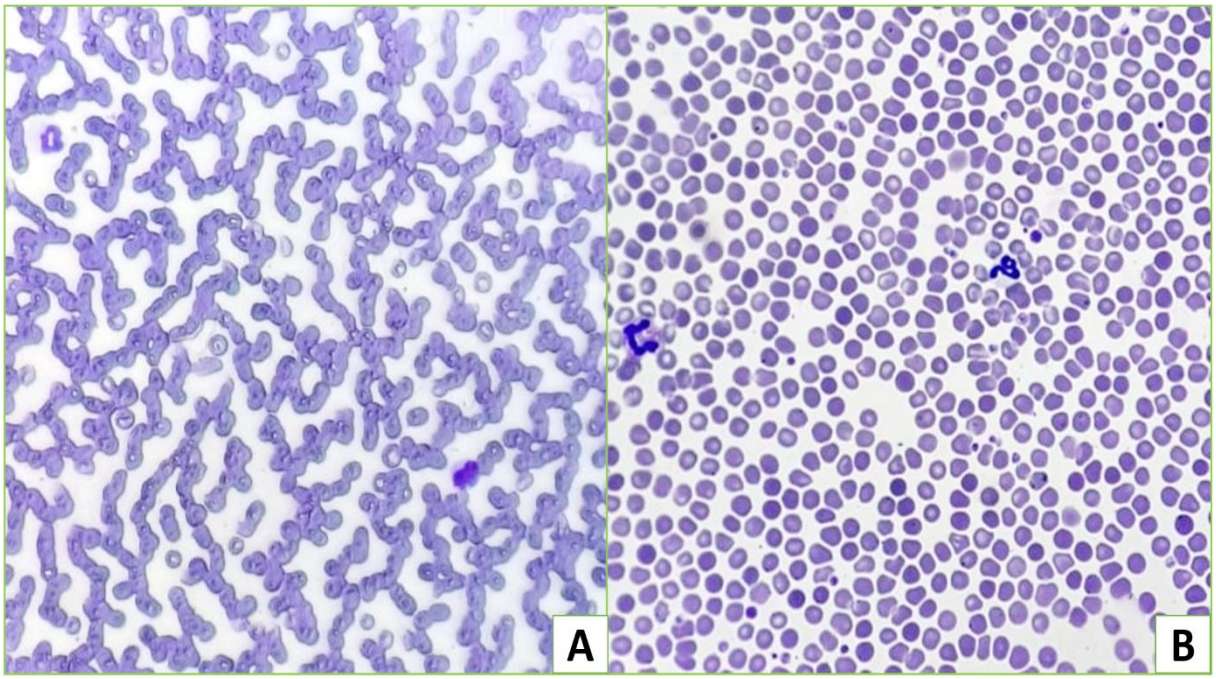


Figura 6. A: Esfregaço sanguíneo de um cão mostrando a formação de rouleaux, **B:** Esfregaço sanguíneo de um cão mostrando a aparência normal na disposição das hemácias no esfregaço sanguíneo (arquivo pessoal). (aumento da observação em 400x, com objetiva de 40x, coloração de *Diff-Quick*)

Por seguinte foi demonstrado a presença de anemia em 51,11% (46/90) dos casos na primeira parte do estudo, e em 81,25% (13/16) dos casos da segunda parte do estudo, juntamente com eritropenia em 53,33% (48/90) dos casos na primeira parte do estudo, e em 81,25% dos casos na segunda parte do estudo. Ambas as patologias demostram a diminuição no número de eritrócitos na circulação sanguínea. Isto pode estar ligado a diversas causas, tanto pela destruição de hemácia e liberação de hemoglobinas, no qual as amastigotas buscarão ferro para realizar a síntese de suas enzimas, como também para casos em que se tenha problemas na eritropoiese (RODRÍGUEZ, 2008; JERICÓ *et al.*, 2015).

A eritropoiese ocorre na medula óssea, na qual citocinas como a interleucina (IL)-3, estimula as células tronco a produzirem células, dentre elas as hemácias e plaquetas. E como um dos principais locais de infecção da *Leishmania sp.* é a medula óssea, local onde ocorre toda a eritropoiese, ao haver o parasitismo pelas amastigotas nos macrófagos, irá haver liberação de fatores, como o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α, do inglês *Tumoral Necrosis Factor α*), durante o processo de inflamação que está ocorrendo. Essa anemia seguida de eritropenia, pode estar ocorrendo devido a supressão da medula óssea, dada pelo TNF-α, decorrente da resposta do organismo que além de fazer essa supressão, esse fator estimula o catabolismo de hepatócitos e de células musculares (JERICÓ *et al.*, 2015; ALLISON, 2015a).

O baço também pode ser um dos responsáveis por essa anemia, tendo em vista que células como eritrócitos possuem proteínas e anticorpos que os marcam, e auxiliam para que eles sejam pegos e removidos da circulação sanguínea, desta forma esse órgão pode sequestrar células como meio de defesa do organismo, como a exemplo o sequestro de hemoglobinas para supressão do ferro que é necessário para a multiplicação da amastigota da *Leishmania sp.* (RODRÍGUEZ, 2008; JERICÓ *et al.*, 2015; GAZZINELLI, 2015). Além disso uma das causas mais importantes da leishmaniose é a esplenomegalia, causada por altas cargas parasitárias no baço, o que pode acarretar em anemias devido a interferências no sistema de eritropoiese (MEHLHORN, 2016; ALMEIDA & LINDHOLZ, 2018).

Apesar da leishmaniose estar ligada a mais de um tipo de causa de anemia, nem sempre será o mesmo para a grande maioria, pois a gravidade de cada uma vai depender do grau e estabilidade do quadro clínico do animal (JERICÓ *et al.*, 2015). Mas é possível caracterizar quanto aos tipos de anemias de cada caso como a Anemia Normocítica Normocrômica e dentre outros encontrados no estudo como podem ser vistos na Tabela 11 e Gráfico 5 a seguir.

Tabela 11: Tipos de anemias encontradas a partir dos dados dos exames do estudo.

	Estudo P.1			Estudo P.2	
Anemia	**A.N.N**	**A.Ma.N**	**A.Mi.N**	**A.N.N**	**A.Mi.N**
Total	41	1	3	12	1
Total%*	45,56%	1,11%	3,33%	75,00%	6,25%

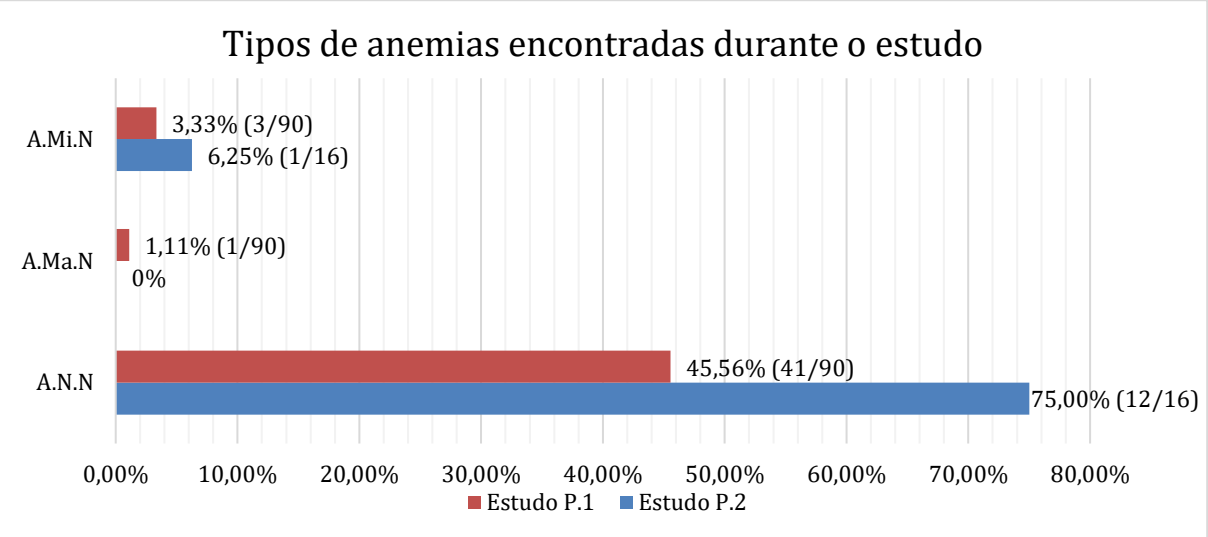
Legenda: ANN = Anemia Normocítica Normocrômica; A.Ma.N = Anemia Microcítica Normocrômica; A.Mi.N = Anemia Microcítica Normocrômica;

P.1 = Estudo realizado com todos os dados de exames, dos métodos diagnósticos, inclusos testes sorológicos de ELISA e RIFI.

P.2 = Estudo realizado apenas com os dados dos exames, que tiveram confirmação diagnóstica através de exames complementares.

*O cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 e 16 cães, P.1 e P.2 respectivamente).

Gráfico 5 – Frequência (%) da ocorrência dos tipos de anemia predominantes nos estudos.



Legenda: ANN = Anemia Normocítica Normocrômica; A.Ma.N = Anemia Microcítica Normocrômica; A.Mi.N = Anemia Microcítica Normocrômica; % = o cálculo da porcentagem foi no total de amostras (90 e 16 cães, P.1 e P.2 respectivamente); (X/16)&(X/90) = representam a quantidade de exames de animais que a alteração apareceu, para a quantidade total de exames realizadas no estudo.

P.1 = Parte do estudo realizado com todos os dados de exames, dos métodos diagnósticos, inclusos testes sorológicos de ELISA e RIFI.

P.2 = Parte do estudo realizado apenas com os dados dos exames, que tiveram confirmação diagnóstica através de exames complementares.

No estudo, teve a presença de alguns tipos de anemia, mas apenas foi possível constatar a anemia normocítica normocrômica como o tipo de anemia com uma frequência mais significativa na leishmaniose, correspondendo a 45,56% (41/90) dos casos na primeira parte do estudo, e em 75% (12/16) dos casos na segunda parte estudo. Esse tipo de anemia é comumente relacionado a *Leishmania sp.*, podendo ocorrer devido a complicações hemorrágicas, e/ou por algum nível falta de resposta medular, indicando algum tipo de diminuição da atividade de eritropoiese, que pode estar sendo inibida devido a supressão da medula óssea, causada pelo processo inflamatório crônico presente no organismo, atribuído principalmente pela presença

de amastigotas de *Leishmania* sp. pelo corpo do animal e principalmente na medula óssea (OCHOA, 2007; LAUS *et al.*, 2016; SILVA & MONTEIRO, 2016).

As complicações hemorrágicas estão relacionadas normalmente com a trombocitopenia e disfunção hepática grave. Durante o estudo foram observados trombocitopenia em 35,55% (35/90) dos casos na primeira parte do estudo, e em 50% (8/16) dos casos na segunda parte do estudo, apontando certa frequência dela em casos de leishmaniose, assim como relatado por JERICÓ *et al.* (2015) e SCHAEFER & CORN (2020).

A trombocitopenia é um mecanismo idiopático e multifatorial que ocorre durante a supressão da medula óssea, juntamente com a diminuição de eritrócitos, causada por fatores TNF-α liberados por macrófagos, durante o parasitismo de agentes infecciosos como a *Leishmania* sp.. Também pode ocorrer a trombocitopenia idiopática imunomediada, que ocorre por causa do uso de medicamentos, pois quando se faz uso de certos tipos de medicamentos, as vezes em excesso, estes podem fazer o sistema imune acabar atacando as plaquetas erroneamente levando então a sua diminuição (JERICÓ *et al*., 2015; SANTÍ *et al*, 2023; TECSA, 20--).

A trombocitopenia causada por disfunção hepática pode ocorrer de modo idiopático com o uso de alguns medicamentos. Está relacionada com a degradação de hepatócitos, que devido ao estimulo do TNF-α, ocorre o aumento da síntese proteica que leva ao excesso de liberação proteínas e aumento de enzimas hepáticas. Com o aumento da síntese proteica tem-se o aumento da liberação de globulinas, assim devido ao estimulo dos antígenos da leishmaniose ocorre uma liberação aumentada de imunoglobulinas, que dentre estas a IgG, tem uma ligação para plaquetas, levando a uma diminuição delas, e consequentemente a quadro de trombocitopenia (STOCKHAM & SCOTT, 2011c; TIZARD, 2014; TILLEY & JUNIOR, 2015).

6 CONCLUSÃO

Com a avaliação dos dados encontrados foi encontrado uma variedade de alterações relacionadas a leishmaniose, mas dentre elas foram elencadas algumas que foram mais frequentes durante o estudo: a hiperproteinemia, que foi a alteração com maior importância, na qual estava relacionada a outros achados como a diminuição na relação A/G, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, hipohemoglobinemia e Rouleaux; a trombocitopenia, que também que esteve relacionada ao aumento de proteínas no organismo; e pôr fim a eritrocitopenia e anemia, principalmente a do tipo normocítica normocrômica. Apesar de se ter obtido novos dados sobre prováveis características da leishmaniose, não foram o suficiente para montar um novo método diagnóstico, visto que as alterações encontradas já são citadas em estudos sobre *Leishmania sp.*, mas foi possível realizar uma explicação total da sua fisiopatogenia.

7 RELATÓRIO DE ESTÁGIO – CENTRO ESPECIALIZADO EM ANÁLISES VETERINÁRIAS (CEAV)

7.1 INTRODUÇÃO

Cada vez mais, se tem laboratórios clínicos veterinários iniciando suas atividades, pois uma das grandes dificuldades no mundo veterinário, é diagnosticar e detectar com precisão as doenças que acometem os animais, apenas com histórico e sintomas analisados pela anamnese, assim necessitando de exames complementares e dentre eles os laboratórios, já vem com uma padronização de exames, como os hematológicos, bioquímicos, citológicos dentre outros, realizados por profissionais na área laboratorial (STOCKHAM & SCOTT, 2011a; OLIVEIRA, 2018).

Além dos laboratórios menores que vem abrindo, estes muitas vezes usam outros laboratórios que tem um fluxo e rotina maiores, para realização de certos exames mais complexos e/ou de custo elevado, como certos exames que em laboratórios menores não é facilmente realizado, como microbiologia, histopatologia e toxicologia. A patologia clínica veterinária vem crescendo, pois junto mais clinicas veterinárias vem abrindo as portas e necessitando de um apoio maior relacionado a seus exames, laboratórios veterinários tem funcionalidade igual a de laboratórios humanos, com isso para realizar tais exames e de suma importância ter profissionais capacitados, com um conhecimento profundo e especifico na área (STOCKHAM & SCOTT, 2011a; LABTEST, 2019).

7.2 DESCRIÇÃO DO LOCAL

O estágio foi realizado no Centro Especializado em Análises Veterinárias (CEAV), que é uma adjacência ao centro de especialidades NEOVETS (Figura 7), localizada na Rua Rui Barbosa – Centro. Ela conta com uma única sala (Figura 8), onde é dividido em 3 partes principalmente, a parte administrativa (Figura 9), a parte

onde é realizado os exames hematológicos (Figura 10) e a parte dos exames bioquímicos (Figura 11).

Figura 7. Entrada principal do prédio NEOVETS (arquivo pessoal).

Figura 8. Visão geral laboratório CEAV (arquivo pessoal).

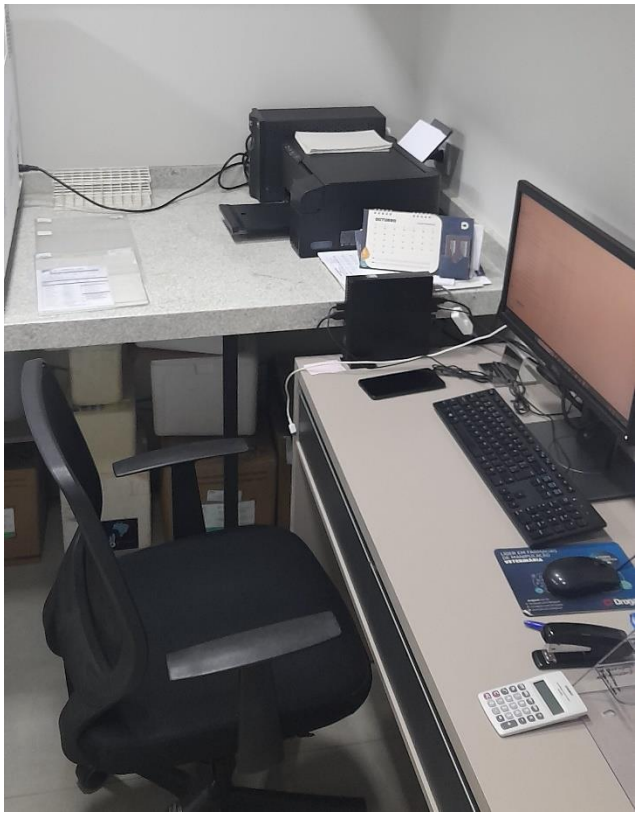


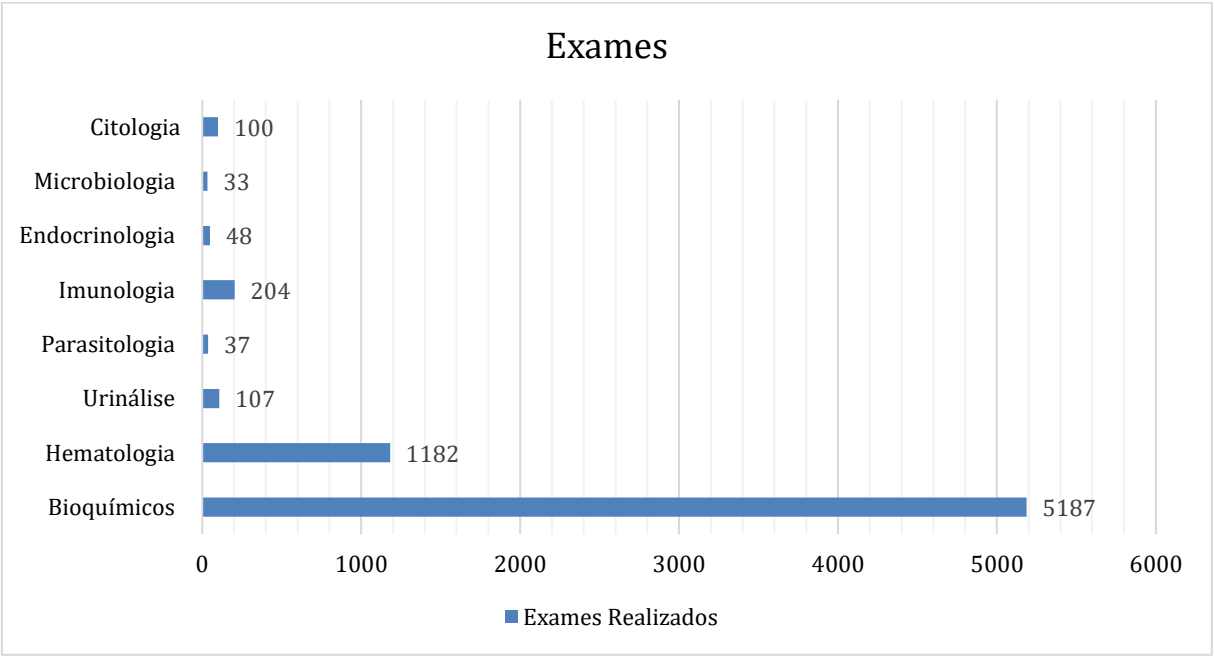
Figura 9. Parte administrativa CEAV (arquivo pessoal).

Figura 10. Parte hematológica CEAV (arquivo pessoal).

Figura 11. Parte onde são realizados o preparo e os exames bioquímicos (arquivo pessoal).

Foi acompanhado no laboratório durante o período de estágio, a realização e/ou encaminhamento de 6898 exames laboratoriais, sendo estes divididos em setores, que estão dispostos no gráfico 6 a seguir.

Gráfico 6: Exames realizados durante o período de estagio, sendo divido por setores.



7.3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

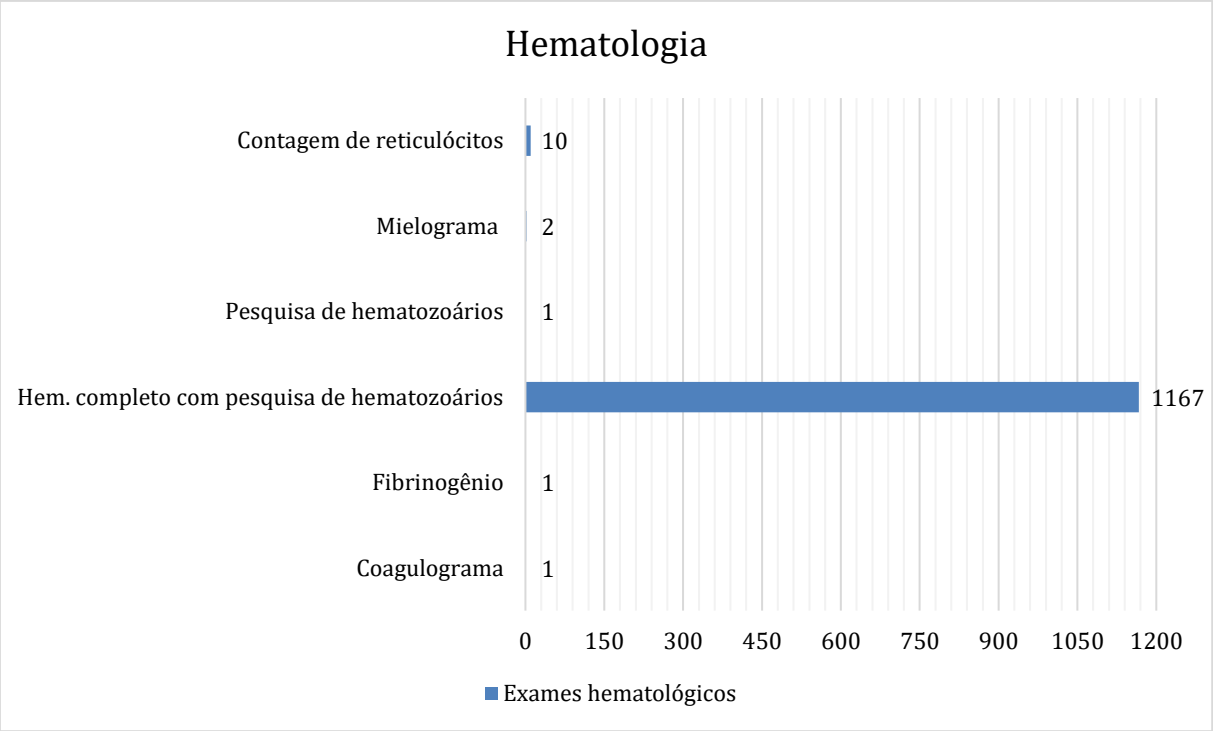
7.3.1 Hematologia: Analises de Esfregaço de Sangue Periférico

O estagiário participou auxiliando os médicos veterinários no recebimento, processamento, execução e leitura das amostras, atividades que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão, sendo estas atividades o recebimento das amostras onde é realizado a primeira avaliação de presença de coágulo e fibrina entre outras alterações, além de verificar presença suficiente de amostra para realização de exames.

O estagiário realizou esfregaço sanguíneo, coloração das lâminas confeccionadas, processamento da amostra no aparelho hematológico Mindray BC-2800Vet, preparação de capilares para sanguíneos, leitura de capilares sanguíneos avaliando volume globular (VG), proteínas plasmáticas totais (PPT) e índice ictérico (II) preparação de diluentes para contagem manual quando necessário, como também a realização de contagens manuais de leucócitos, hemácias e plaquetas, visualização do esfregaço sanguíneo no microscópio e realizando assim o diferencial leucocitário e pesquisa de hemoparasitas.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 1182 exames hematológicos, sendo estes divididos nos exames como coagulograma, fibrinogênio, hemograma completo com pesquisa de hematozoários, pesquisa de hematozoários, mielograma e contagem de reticulócitos, que estão dispostos no gráfico 7 a seguir.

Gráfico 7: Exames hematológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame.



Legenda: Hem = Hemograma.

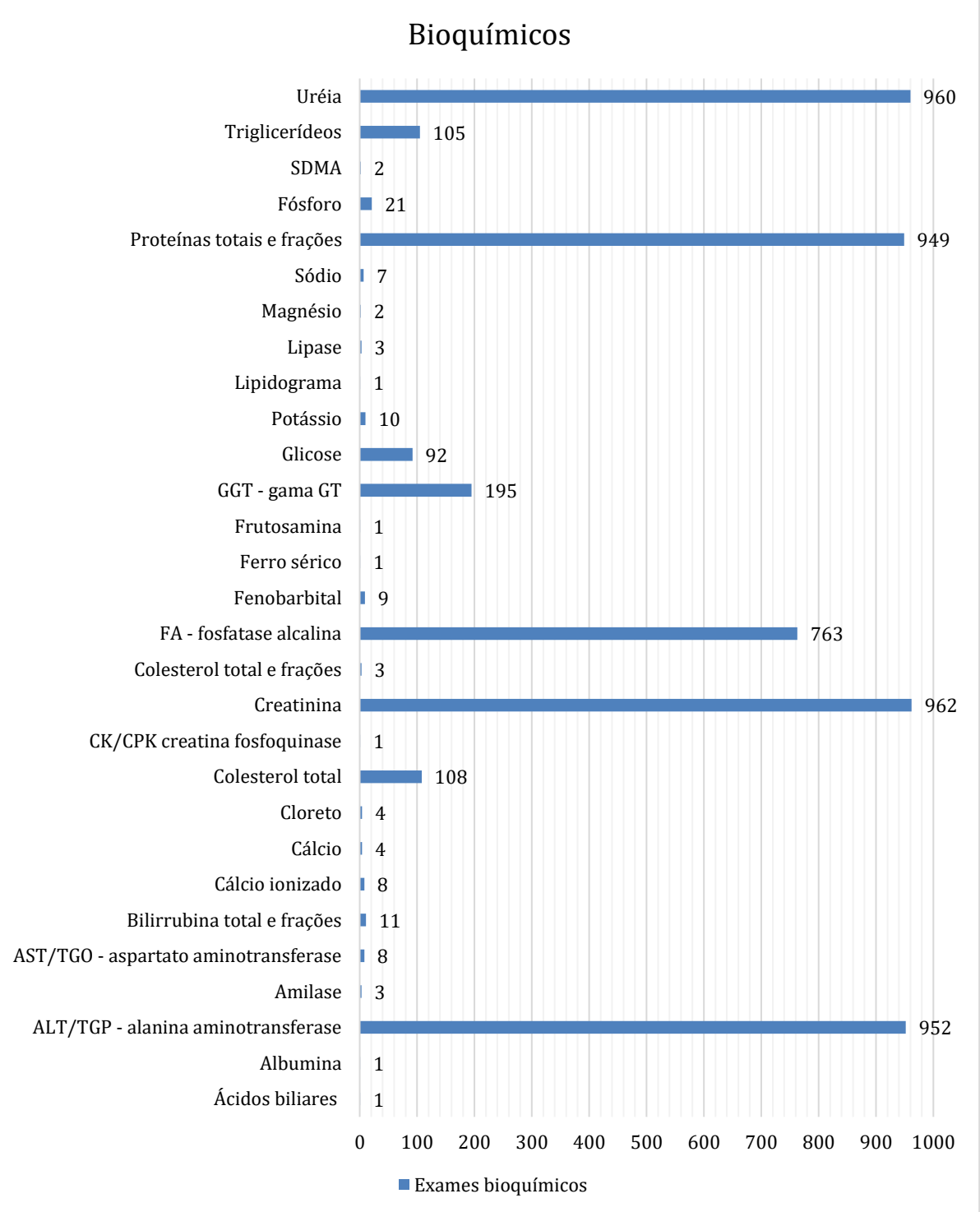
7.3.2 Bioquímicos

O estagiário participou auxiliando os médicos veterinários no recebimento, processamento, execução e leitura destas amostras, atividades estas que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão.

As atividades realizadas foram o recebimento e centrifugação das amostras, dessorar amostras e realizar avaliação física da amostra, diferenciando entre amostras normais, hemolisadas e ictéricas, preparar amostras para serem encaminhadas ou processadas pelo avaliador bioquímico automatizado Audmax Evolution, realizar analises bioquímicas no aparelho Bioplus quando necessário.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 5187 exames bioquímicos, sendo estes divididos diversos exames que estão dispostos no gráfico 8 a seguir.

Gráfico 8: Exames bioquímicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame.



Legenda: SDMA = dimetilarginina simétrica, do inglês *Symmetrical dimethylarginine*; GGT = Gamaglutamil transferase; FA = Fosfatase Alcalina; CK/CPK = creatininoquinase/creatina fosfoquinase, do inglês *creatine phosphokinase*; AST/TGO = aspartato aminotransferase/transaminase glutâmico-oxalacética; ALT/TGP = Alanina Aminotransferase/transaminase glutâmico-pirúvica.

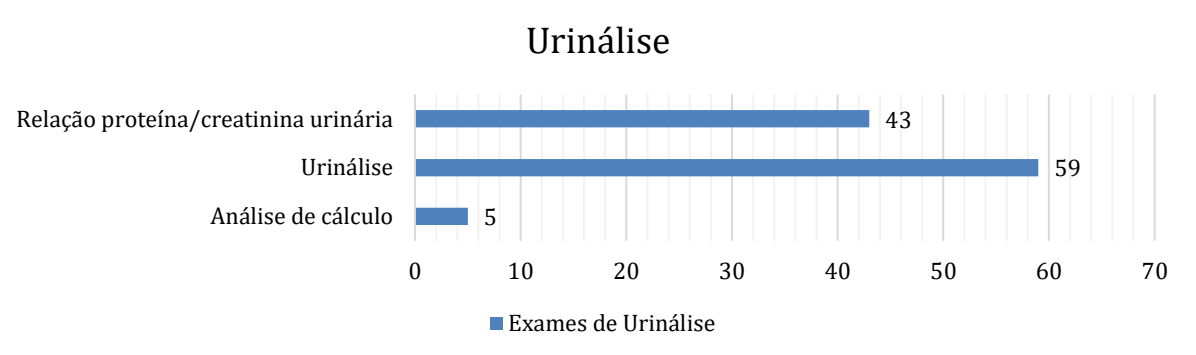
7.3.3 Urinálise

O estagiário participou auxiliando os médicos veterinários no recebimento, processamento, execução e leitura destas amostras, atividades estas que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão.

As atividades realizadas foram a avaliação física da amostra, sendo avaliadas, cor, odor, aspecto, densidade e volume, além de posterior analise bioquímica através de tiras reagentes para a determinação semiquantitativa rápida, centrifugação da amostra para realização exames de UPC, realização de exame bioquímico de UPC, confecção da lâmina para realização da leitura da mesma e realizar leitura e analise de lâmina bioquímica.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 107 exames de urinálise, sendo estes divididos nos exames como análise de cálculo, urinálise e relação proteína/creatinina urinária, que estão dispostos no gráfico 9 a seguir.

Gráfico 9: Exames de urinálise realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame.



7.3.4 Exame Parasitológico de Fezes

Os exames parasitológicos de fezes estão inclusos dentre os exames de parasitologia realizados no laboratório, no qual o estagiário participou auxiliando os

médicos veterinários no recebimento, processamento, execução e leitura destas amostras, atividades estas que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão.

As atividades realizadas foram a avaliação física da amostra, sendo avaliadas primeiramente de modo físico, sendo observado cor, odor, aspecto, dentre outras possíveis alterações, realizar o processamento da amostra através da técnica de Willys-Mollay modificado e pela técnica de Faust, preparo das lâminas para leitura e análise, realizar leitura e análise da lâmina confeccionada.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 28 exames parasitológicos de fezes.

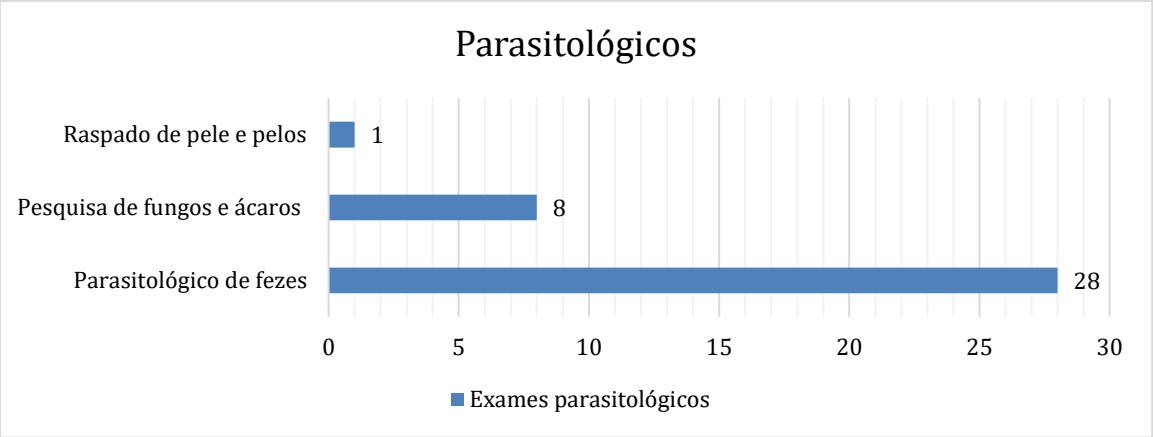
7.3.5 Exames de pesquisa de parasitas, fungos e ácaros em raspado de pele e pelos

Juntamente com o exame parasitológicos de fezes, estão inclusos dentre os exames de parasitologia realizados no laboratório, no qual o estagiário participou auxiliando os médicos veterinários no recebimento, processamento, execução e leitura destas amostras, atividades estas que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão.

As atividades realizadas foram o recebimento da amostra, realizar preparo e confecção da lâmina e análise na lâmina no microscópio.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 37 exames de parasitologia, sendo estes divididos nos exames de parasitológico de fezes, pesquisa de fungos e ácaros e raspado de pele e pelos, que estão dispostos no gráfico 10 a seguir.

Gráfico 10: Exames parasitológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame.



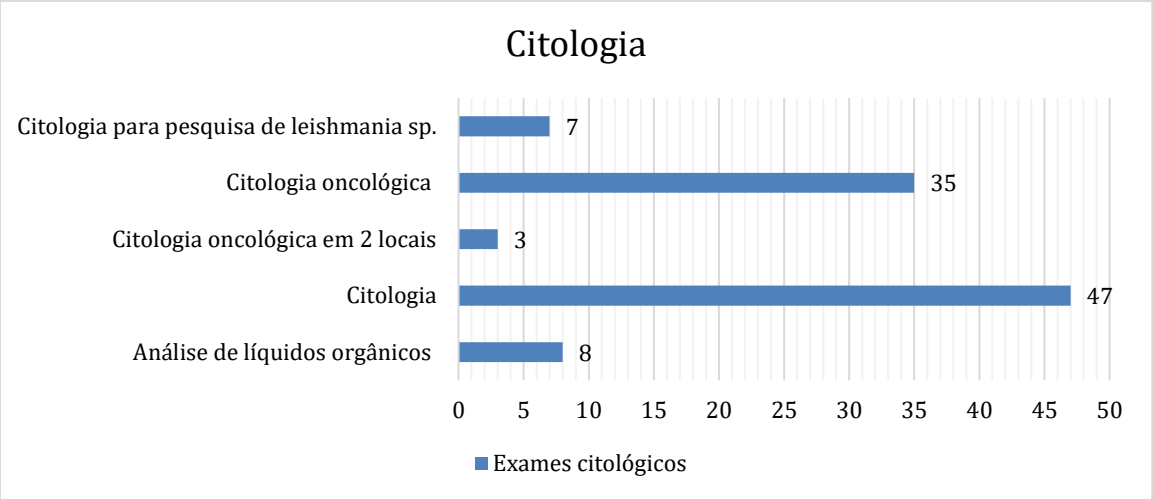
7.3.6 Exames de Citologia

O estagiário participou auxiliando os médicos veterinários no recebimento, processamento, execução e leitura destas amostras, atividades estas que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão.

As atividades realizadas foram o acompanhamento e auxilio na colheita do material biológico para confecção das lâminas de citologia, além do recebimento e processamento das lâminas que já vinham confeccionadas, realizar a fixação das lâminas e fazer a coloração destas com corante de *Diff-Quick* ou May Grunwald-Giemsa dependendo de cada amostra e realizar a visualização das lâminas no microscópio.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 100 exames citológicos, sendo estes dispostos no gráfico 11 a seguir.

Gráfico 11: Exames citológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame.



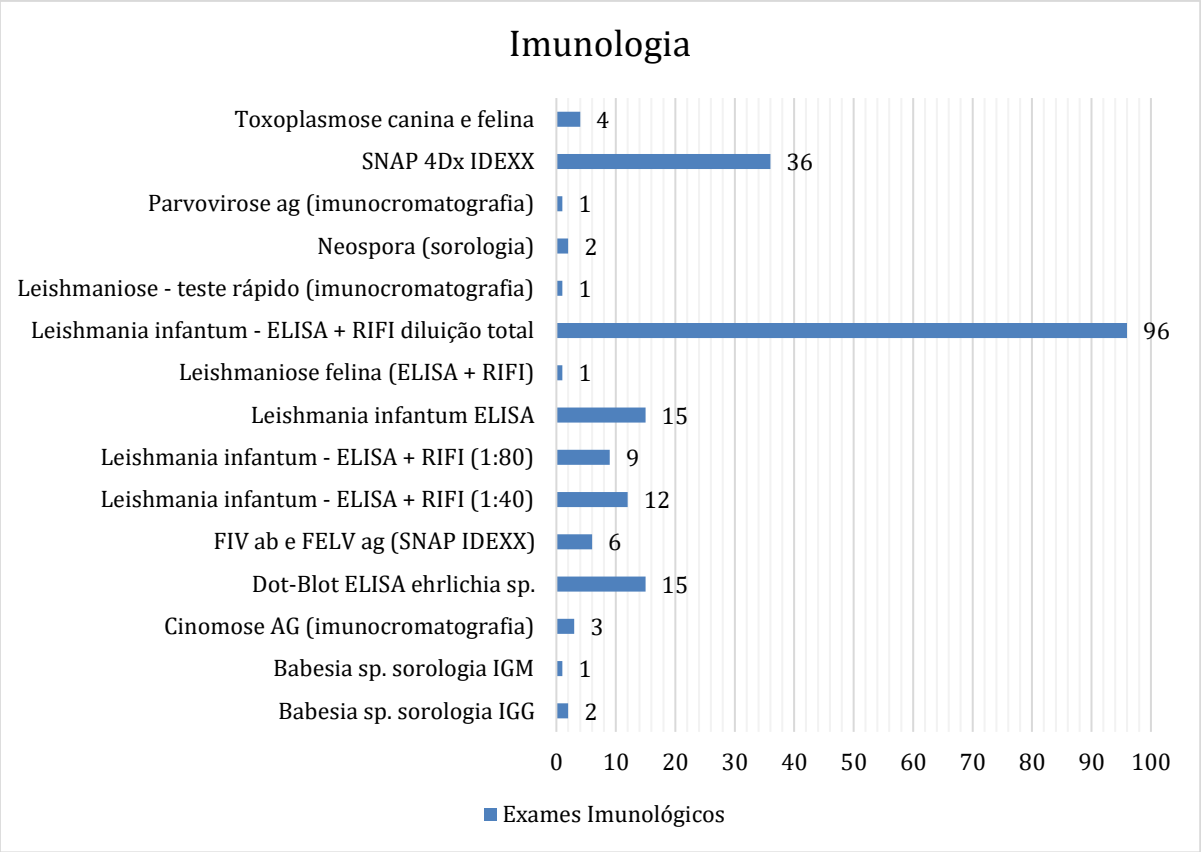
7.3.7 Execução de exames imunológicos

O estagiário participou auxiliando os médicos veterinários no recebimento, procedimento, execução e leitura destas amostras, atividades estas que foram realizadas sob total responsabilidade do estagiário sob supervisão.

As atividades realizadas foram a realização de testes rápidos SNAP 4Dx Plus e SNAP FIV/FeLV com amostras de sangue ou soro.

Durante as atividades realizadas, ao todo foram acompanhados a realização, preparo, execução e/ou encaminhamento de 204 exames imunológicos, sendo estes dispostos no gráfico 12 a seguir.

Gráfico 12: Exames imunológicos realizados durante o período de estagio, sendo divido por tipo de exame.



Legenda: SNAP 4Dx IDEXX = Diagnóstico in vitro para a detecção do antígeno e anticorpos de certos hemoparasitas caninos; ELISA = Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*; RIFI = Reação de Imunofluorescência Indireta; FIV = Vírus da imunodeficiência felina, do inglês *feline immunodeficiency vírus*; FELV = Vírus da Leucemia Felina, do inglês *Feline leukemia vírus*; SNAP FIV/FeLV = Diagnóstico in vitro para a detecção do antígeno e anticorpos de certos hemoparasitas felinos; AB = Anticorpo, do inglês *Antibody*; AG = Antígenom, do inglês *Antigen*.

7.4 CONCLUSÃO

Durante o estágio realizado no Centro Especializado em Análises Clínicas Veterinárias – CEAV, foi possível compreender, o que é ser veterinário, e principalmente a importância dos patologistas clínicos na rotina clínica veterinária, assim como a importância da medicina veterinária em si. Com o auxílio, e disposição que os profissionais lá presentes estiveram a me ensinar tudo sobre a área, e sobre a veterinária no mercado, foi possível identificar e compreender como a medicina veterinária está crescendo, e como é importante diagnosticar corretamente os pacientes, para minimizar estresse, dificuldade e sofrimento, tanto para o animal, quanto para seus membros da família, além de proporcionar uma vida mais saudável e feliz para todos.

REFERÊNCIAS

ADOLFO, M. S. & SILVA, A. V**.** Impacto da Pandemia Covid- 19 Sobre Cães, Gatos e Tutores: Percepções e Consequências nas Relações Homem-Animal. **XXVI Seminário de Iniciação Científica da UEFS – Semana Nacional de Ciência e Tecnologia - 2022**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2022. Disponível em: <https://periodicos.uefs.br/index.php/semic/article/view/9434/7833>. Acesso em: 17 de mai. 2023.

AHID, S. M. M. **Apostila Didatica Protozoologia Veterinária**. Rio grande do Norte: Universidade Federal Rural do Semi-Árido. 2009. 43 p., Disponível em: <https://docplayer.com.br/28632523-Apostila-didatica-protozoologia-veterinaria.html>. Acesso em: 10 jul. 2023.

ALLISON, R. W*.* Avaliação Laboratorial da Função Hepática. In: THRALL, M. A. *et al.,* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Gen & Roca, 2015a. 1590 p. Tradução de: FAGILARI, L. S. da S. cap. 26.

ALLISON, R. W*.* Avaliação Laboratorial das Proteínas do Plasma e do Soro Sanguíneo. In: THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Gen & Roca, 2015b. 1590 p. Tradução de: FAGILARI, L. S. da S. cap. 29.

ALMEIDA, M. E. de & LINDHOLZ, C. G. Protozoários: Leishmania spp. In: BARCELOS, L. F. & AQUINO, J. L. **Tratado de Análises Clínicas**. 1 ed. ATHENEU. 2018. 817p., cap. 44.

ANDRADE, R. O. Leishmaniose – Um parasita camuflado. **Pesquisa FAPESP.** 2013. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/um-parasita-camuflado/>. Acesso em: 20 out. 2023;

BARATA, R. A. *et al.* Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Revista da Sociedade**

Brasileira de Medicina Tropical. v. 38, n. 5, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/qL6yKfdtkNsbKwnt7dVHSNG/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 07 jul. 2023.

BLAUVELT, M. & MESSICK, J. B. The Lymph Nodes. In: COWELL, L. R. & VALENCIANO, A. C. **Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 5 ed. ELSEVIER. 2020. 566p., cap. 11.

BORGES, C. E. F. **Aspectos Clínicos-Laboratoriais e Estudo de Critérios Utilizados para Diagnóstico em Cães com Suspeita de Erliquiose e/ou Anaplasmose Canina**. 2019. 95 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Uberaba, Uberaba, 2019.

BRUM, B. T. & CARVALHO, A. T. Incidência de Hemoparasitoses em Cães e Gatos na Região do Vale do Jamari – Rondônia. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação – REASE.** v. 8, n. 10, 2022. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/7326>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

CAEIROS, A. P. da S. **Detecção de *Babesia Spp*. e de Outros Hemoparasitas em Cães, por Técnicas Morfológicas, Serológicas e Moleculares, no Distrito de Lisboa, Portugal**. 2012. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

CAMPBELL, T. W. Bioquímica Clínica de Mamíferos/Animais de Laboratório e Espécies Variadas. In: THRALL, M. A. *et al*. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Gen & Roca, 2015. 1590 p. Tradução de: THIESEN, R. cap. 34.

CAMPBELL, T. W. Hematologia de Mamíferos/Animais de Laboratório e Espécies Variadas. In: THRALL, M. A. *et al*. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Gen & Roca, 2015. 1590 p. Tradução de: THIESEN, R. cap. 18.

CIUFOLINI, M. G. *et al*. Diagnóstico Laboratorial de Flebovírus (Vírus Toscana). **ACTA Médica Portuguesa**. v. 20, n. 4, 2007. Disponível em:

<https://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/867>. Acesso em: 11 jul. 2023.

COSTA, G. P. *et al.* Métodos de Diagnóstico da Leishmaniose Canina: Revisão de Literatura. **Revista Saber Científico**. v. 9, n. 2, 2020. Disponível em: <https://periodicos.saolucas.edu.br/index.php/resc/article/view/1497>. Acesso em: 20 out. 2023.

DIAS, A.F.L.R. *et al.* Cytological and molecular detection of Leishmania spp. in different biological tissues of dogs in areas endemic for visceral leishmaniasis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecni**a. v. 71, n. 6, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/wRzVFx64YsJfWfR8LNcgYXc/?format=html&lang=en>. Acesso em: 15 set. 2023.

DIVINO, L. D. A. Pandemia e o Crescente Aumento na Adoção de Animais Domésticos. **Gestão Tecnologia**. v. 1, n. 30, 2020. Disponível em: <http://www.faculdadedelta.edu.br/revistas3/index.php/gt/article/download/46/37>. Acesso em: 17 de mai. 2023.

DÓRIA, Renata G.s. *et al.* Investigação clínica e comparação do esfregaço sanguíneo e PCR para diagnóstico de hemoparasitas em equinos de esporte e tração (carroceiros). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 36, n. 8, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/F3J3zXhBLJWHnx9frg4LgRG/>. Acesso em: 19 set. 2023.

DORVAL, M. E. M. C. *et al*. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V. 39, n. 1, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/pvwYXThT3gkrXwqdtMjBTrS/?lang=pt>. Acesso em: 7 ago. 2023.

EVANS, E. W. Proteins, Lipids, and Carbohydrates. In: LATIMER, K. S. **Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine**: Clinical Pathology. 6 ed. Wiley-Blackwell. 2011. 523p., cap. 6.

EVARISTO, A. M. da C. F. *et al*. Detecção e caracterização molecular de Leishmania em cães do nordeste do Brasil. **Brazilian Journal of Global Health**. 2021. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1134489/1/Deteccao-e-caracterizacao-molecular-2021.pdf>. Acesso em: 3 out.

FARIA, A. R. & ANDRADE, H. M. de. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, 2012. Disponível em: <https://ojs.iec.gov.br/index.php/rpas/article/view/901>. Acesso em: 12 out. 2023.

FERREIRA, M. U. *et al*. Diagnóstico Parasitológico. In: FERREIRA, M. U. **Parasitologia Contemporânea**. 2. ed. São Paulo: Gen & GUANABARA KOOGAN, 2021. 1017 p., cap. 20.

FIGUEIRA, L. de P. *et al*. Distribuição de Casos de Leishmaniose Tegumentar no Município de Rio Preto da Eva, Amazonas, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. v. 43, n. 2, 2014. Disponível em: https://revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/31137. Acesso em: 22 ago. 2023.

FINAMORE, J. G. **Aspectos Clínicos-Laboratoriais e Estudo de Critérios Utilizados para Diagnóstico em Cães com Suspeita de Erliquiose e/ou Anaplasmose Canina**. 2020. 32 f. TCC (Graduação). Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, Uberaba, 2020.

FIOCRUZ – Laboratório de Imunomodulação – Depto. De Protozoologia/IOC. **As Leishmanioses: Imuno-patologias.** 1997. Disponível em: <http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/imuno-patologia.htm>. Acesso em: 20 out. 2023

FREEMAN, K. P. & KLENNER, S. Veterinary Clinical Pathology A Case-Based Approach. 1. ed. New York: Taylor & Francis Group, 2015. 285 p.

FURTADO, M.V.L. *et al*. Pesquisa de amastigotas de Leishmania spp. em linfonodos, medula óssea, baço, pele e sangue de cães naturalmente infectados. **PUBVET**. v. 5, n. 30, 2011. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2213> Acesso em 01 de set. de 2023.

GREENE, C. E. **Greene Doenças Infecciosas em Cães e Gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 2836 p.

GUALDA, K, P. *et al*. New Primers For Detection of *Leishmania Infantum* Using Polymerase Chain Reaction. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. V. 57, n. 5, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/VnhxSWhqr8j4mGdpdWZ9Qnf/?lang=en>. Acesso em: 29 jul. 2023.

GUIMARÃES, L. H. *et al.* Aspectos Clínicos da Leishmaniose Tegumentar. **Gazeta Médica da Bahia**. v. 75, n. 1, 2005. Disponível em: <https://gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/view/352>. Acesso em: 20 ago. 2023.

GUIMARÃES, M. de C. N. **Ocorrência de hemoparasitoses em cães domésticos: achados hematológicos e moleculares**. 2019. 49 f. TCC (Graduação). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2019.

GAZZINELLI, S. E. P. **Apostila de Parasitologia**. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, 2015. 54 p. Disponível em: <https://www.fernandosantiago.com.br/fic_papo.pdf>. Acesso em: 20 de mai. 2023.

HALSTED, J. A. **The Laboratory in Clinical Medicine, Interpretacion and Application**. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1981. 866 p.

LABTEST. Análises clínicas veterinárias: conheça mais sobre este mercado em expansão. **Diagnóstico Vet**. 2019. Disponível em: <https://labtest.com.br/blog/analises-clinicas-veterinarias-conheca-mais-sobre-este-mercado-em-expansao/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

LAURINDO, W. C. **Avaliação do potencial vacinal de derivados de duas proteínas de Leishmania infantum para aplicação no controle da leishmaniose visceral**. 2021. 99 f. Monografia (Especialização) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2021.

LAUS, L. L. *et al*. Bulbo do Olho e Anexos. In: SANTOS, R. de L. & ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**, 2 ed. Guanabara Koogan. 2016. 1346p., cap. 9.

MALAFAIA, Guilherme. Captação de ferro pelos parasitos do gênero Leishmania. **Revista BIOCIÊNCIAS**. v. 14, n. 1, 2008. Disponível em: <http://periodicos.unitau.br/ojs/index.php/biociencias/article/view/475>. Acesso em: 13 nov. 2023.

MARCONDES, M. & VASCONCELLOS, S. A. Leishmaniose Visceral. **CRMV-SP Série Zoonoses**. 2021. Disponível em: <https://crmvsp.gov.br/wp-content/uploads/2021/02/LEISHMANIOSE_SERIE_ZOONOSES.pdf>. Acesso em: 30 jul. 2023.

MEHLHORN, H. L - *Leishmania Donovani* Complex: Survey. In: ___. **Encyclopedia of Parasitology**. 4 ed. Springer Reference. 2016c. 3096p., cap. L.

MEINKOTH J. H. *et al*. Sample Collection and Preparation. In: COWELL, L. R. & VALENCIANO, A. C. **Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 5 ed. ELSEVIER. 2020. 566p., cap. 1.

MONTEIRO, É. M. *et al.* Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropica**. v. 38, n. 2. 2005. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/M5CFjQR6P6HT9qSYrqHNrVy/>. Acesso em: 09 jul. 2023.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Santa Maria: [S.N.], 2007. 272 p.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Gen & Roca, 2017. 621 p.

MOTTA, L. M. *et al.* Diagnóstico imunológico e molecular da Leishmaniose Visceral Canina: Revisão. **PUBVET**. v.15, n.08, 2021. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/353746804_Diagnostico_imunologico_e_molecular_da_Leishmaniose_Visceral_Canina_Revisao>. Acesso em: 5 out. 2023.

NASCIMENTO, J. P. *et al*. Alterações hematológicas em cães positivos para Leishmania spp em esfregaço sanguíneo. **PUBVET**. v. 15, n. 03, 2021. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/uploads/967c23770e753b7a3b5864c6579df377.pdf>. Acesso em: 13 nov. 2023.

NOGUEIRA, L. L. C. **Ocorrência e Fatores Ambientais Associados à Infecção por Patógenos Transmitidos por *Rhipicephalus Sanguineus* em Cães na Cidade de Mossoró, Rio Grande Do Norte**. 2022. 54 f. Monografia (Especialização) - programa de pós-graduação em ambiente, tecnologia e sociedade, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2022.

NUNES, C. M. *et al*. Aplicações das Técnicas de Manipulação de Ácidos Nucleicos para Diagnóstico de Enfermidades Infecciosas e Parasitárias em Cães e Gatos. In: JERICÓ, M. M. *et al*. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1 ed. Guanabara Koogan. 2015. 7047p., cap. 25.

OCHOA, L. N. Principios Generales de la Citología. In: OCHOA, L. N. & BOUDA, J. **Patología Clínica Veterinária**. 2 ed. DR Universidad Nacional Autónoma de México. 2007. 334p., cap. 5.

OLIVEIRA, S. B. de. A Importância do Laboratório de Análises Clínicas. **Animal LAB**. 2018. Disponível em: <http://animallab.vet.br/a-importancia-do-laboratorio-de-analises-clinicas/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

OLIVEIRA, T. M. V. de. Amostragem não Probabilística: Adequação de Situações para uso e Limitações de amostras por Conveniência, Julgamento e Quotas. **Administração On Line**. v. 2, n 3. 2001. Disponível em: <https://pesquisa-eaesp.fgv.br/sites/gvpesquisa.fgv.br/files/arquivos/veludo_-_amostragem_nao_probabilistica_adequacao_de_situacoes_para_uso_e_limitacoes_de_amostras_por_conveniencia.pdf>. Acesso em: 29 out. 2023.

OTRANTO, D. *et al.* Diagnosis of Canine Vector-Borne Diseases in Young Dogs: a Longitudinal Study †. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 48, n. 9, 2010. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/JCM.00379-10>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

PAIVA, J. E. **Alterações Hematológicas em Cães Naturalmente Infectados por Ehrlichia *Spp*. e *Anaplasma Spp***. 2021. 41 f. Monografia (Especialização). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2021.

PEREIRA, F. E. L. Inflamações. In: FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia Geral**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1492 p. cap 7.

PREVENTIVA, Laboratório Veterinário. Exames veterinários: conheça os principais e entenda a importância de cada um deles. **Laboratório Veterinário Preventiva**. 20--. Disponível em: <https://www.veterinariapreventiva.com.br/exames-veterinarios-conheca-os-principais-e-entenda-a-importancia-de-cada-um-deles>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

RAHMAN, M. T. et al. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. **Anwer Khan Modern Medical College Journa**l. v. 4, n. 1, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/315357963_Polymerase_Chain_Reaction_PCR_A_Short_Review>. Acesso em: 21 set. 2023.

REIS, M. M. Estatística para Administradores I: amostragem. **Departamento de Informática e Estatística (INE)**. 2019. Disponível em: <https://www.inf.ufsc.br/~marcelo.menezes.reis/Cap7.pdf>. Acesso em: 30 out. 2023.

RODRIGUES, A. F. S. F. *et al*. Comunidade de Ectoparasitos e Levantamento de Hemoparasitos em Cães (*Canis Lupus Familiaris*, Linnaeus, 1758) Residentes no Entorno da Serra de São José, Minas Gerais. **Revista de Biologia Neotropical**. v. 15, n. 1, 2018. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/RBN/article/view/37492>. Acesso em: 20 de mai. 2023.

RODRÍGUEZ, L. F. Citología del frotis sanguíneo. IN: MERLO, E. M. M. **Atlas de citología clínica del perro y del gato**. 1 ed. Gráficas Lizarra S.L. 2008. 432p., cap. 12.

SANTARÉM, N. P. M. **Captação de ferro por amastigotas de Leishmania infantum**. 2006. 18 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Aveiro, Aveiro, 2006.

SANTÉ LABORATÓRIO. Bioquímica. **Laboratório Veterinário Santé**. 2021. Disponível em: <https://www.santelaboratorio.com.br/categoria/bioquimica/>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

SANTI, P. R. *et al*. Tratamento de trombocitopenia imunomediada crônica com células-tronco mesenquimais em cão - relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 75, n. 2, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/PZ5s3RwmNTBNhXRSj8psr5Q/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

SÃO JOSÉ, Laboratório Médico. Exame hematológico: descubra as doenças que ele pode identificar. **Laboratório Médico São José**. 20--. Disponível em: <http://labsaojose.com/noticias/exame-hematologico-descubra-as-doencas-que-ele-pode-identificar/>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

SCHAEFER, D. M. W. & CORN, S. C. Special Tests: Flow Cytometry. In: COWELL, L. R. & VALENCIANO, A. C. **Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 5 ed. ELSEVIER. 2020. 566p., cap. 30.

SILVA, A. D. F. da *et al*. Perfil Hematológico e Eletroforético de Proteínas Séricas em Cães Soropositivos para Leishmaniose Visceral no Estado do Rio Grande do Norte. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.5, n.3, 2011. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/2551/5010>. Acesso em: 12 nov. 2023.

SILVA, F. S. da *et al.* Leishmaniose Visceral Canina: Seus Impactos na Saúde Pública, Métodos de Diagnóstico e Alterações Laboratoriais. **RCA Medicina Veterinária**. v. 1, n. 1, 2022. Disponível em: <https://periodicos.faculdaderebouças.com/index.php/veterinaria/article/view/55>. Acesso em: 7 out. 2023.

SILVA, N. M. & MONTEIRO, M. V. B. Anemias. In: ___. **Hematologia Veterinária**. 1 ed. editAedi. 2016. 114p., cap. 4.

SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas.** v.1, n. 1, p. 20, 2007. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/220000420_Patologia_e_patogenese_da_leishmaniose_visceral_canina>. Acesso em: 08 jul. 2023.

SILVA, W. C. *et al.* Percepção dos tutores sobre o comportamento de cães e gatos frente ao isolamento social devido à pandemia de COVID-19. **Revista Acadêmica Ciência Animal**. v. 19. n. cont, 2021. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/cienciaanimal/article/view/27490>. Acesso em: 17 de mai. 2023.

SILVEIRA, F. T. *et al.* Revisão Sobre a patogenia da leishmaniose Tegumentar Americanana Amazônia, com Ênfase à Doença Causada por *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leisshmania (L.) amazonensis*. **Revista Paraense de Medicina**. v. 22,

n. 1, 2008. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpm/v22n1/v22n1a02>.pdf. Acesso em: 08 ago. 2023.

SKELDON, N. & RISTIC, J. Urinalysis. In: VILLIERS, E. & RISTIC, J. **BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology**. 3 ed. British Small Animal Veterinary Association. 2016. 626p., cap. 10.

STOCKHAM, S.L. & SCOTT, M. A. Conceitos Introdutórios. In: _____. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan LTDA. 2011f. 351p. Tradução de: FIGUEIREDO, C., cap. 3

STOCKHAM, S.L. & SCOTT, M. A. Eritrócitos. In: _____. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan LTDA. 2011b. 351p. Tradução de: FIGUEIREDO, C., cap. 3

STOCKHAM, S.L. & SCOTT, M. A. Leucócitos. In: _____ **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan LTDA. 2011a. 351p. Tradução de: TAKAHIRA, R. K., cap. 2

STOCKHAM, S.L. & SCOTT, M. A. Medula Óssea e Linfonodos. In: _____. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan LTDA. 2011d. 351p. Tradução de: TAKAHIRA, R. K., cap. 6

STOCKHAM, S.L. & SCOTT, M. A. Plaquetas. In: _____. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan LTDA. 2011c. 351p. Tradução de: ZANON, R. F., cap. 4

STOCKHAM, S.L. & SCOTT, M. A. Proteínas. In: _____. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan LTDA. 2011e. 351p. Tradução de: TAKAHIRA, R. K., cap. 7

TÁVORA, M. P. F. *et al*. Estudo de validação comparativo entre as técnicas Elisa e RIFI para diagnosticar *Leishmania sp* em cães errantes apreendidos no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade**

Brasileira de Medicina Tropical. v. 40, n. 4. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/qnGmbyZ9mkN9bfRnjR7MDTL/?lang=pt>. Acesso em: 27 out. 2023.

TAYLOR, M. A. *et al.* Entomologia Veterinária. In: _____. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Gen & Guanabara Koogan, 2016. 3789 p. cap 3.

TAYYUB, M. *et al.* Genetic Diversity of Canine Babesia Species Prevalent in Pet Dogs of Punjab, Pakistan. **Animals**. v.9, n. 7, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2615/9/7/439>. Acesso em: 29 set. 2023.

TECSA Laboratórios. Trombocitopenia em animais Domésticos. **Jornada do Conhecimento TECSA Diagnósticos Pet**. 20--. Disponível em: <https://www.tecsa.com.br/assets/pdfs/Trombocitopenia%20em%20animais%20domesticos.pdf>. Acesso em: 18 de mai. 2023.

THRALL, M. A & WEISER, G. Avaliação Laboratorial da Medula Óssea. In: THRALL, M. A. *et al*. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Gen & Roca, 2015. 1590 p. Tradução de: FAGILARI, L. S. da S. cap. 14.

TILLEY, L. P. & JUNIOR, F. W. K. T: Trombocitopenia Imunomediada Primária. In: _____. **Consulta Veterinária em 5 Minutos: Espécies Canina e Felina**. 5 ed. Manole. 2015. 1564p., cap. T.

TIZARD, I. R. Doenças Autoimunes Órgão-específicas. In: _____. **Imunologia Veterinária**. 9 ed. ELSEVIER. 2014. 1217p., cap. 35.

TORTOLA, M. L. V. et al. **A Importância Epidemiológica da Leishmaniose Visceral Canina em Florianópolis: Revisão de Literatura**. 2023. 40 f. TCC (Graduação). Universidade do Sul de Santa Catarina, Florianópolis, 2023.

TRIGO, B. B. *et al*. In silico and in vitro evaluation of primers for molecular differentiation of Leishmania species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 30, n. 1, 2021. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/Qz8tWH6YYnVtGrdVsyGB5VF/?format=html&lang=en>. Acesso em: 09 ago. 2023.

URQUHART, G. M. *et al.* Protozoologia Veterinária. In: _____ **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Scotland: Guanabara Koogan S. A., 1998. 273 p. Tradução de: QUINTANILHA, A. M. N. P., cap 3.

VALERY, B. de M. **Avaliação de efetividade de coleira inseticida impregnada com piretróides na redução da incidência da resposta sorológica para leishmaniose visceral canina**. 2022. 55 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

VIEIRA, F. de T. **Ocorrência de *Ehrlichia Spp., Anaplasma Spp., Babesia Spp., Hepatozoon Spp. e Rickettsia Spp.* em Cães Domiciliados em Seis Municípios do Estado do Espírito Santo, Brasil**. 2017, 68 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Programa de Pós Graduação em Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Espirito Santo, 2017.

WEISER, G. Tecnologia Laboratorial em Medicina Veterinária. In: THRALL, M. A. *et al*. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Gen & Roca, 2015. 1590 p. Tradução de: THIESEN, R. cap. 1.

ZABOLOTZKY, S. M. & WALKER, D. B. Peripheral Blood Smears. In: COWELL, L. R. & VALENCIANO, A. C. **Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat**. 5 ed. ELSEVIER. 2020. 566p., cap. 26.

ZANELLA, A. Técnicas de Amostragem. **Universidade Federal de Santa Catarina**. 20--. Disponível em: <https://moodle.ufsc.br/pluginfile.php/3247778/mod_folder/content/0/Aula_07_T%C3%A9cnicas%20de%20Amostragem.pdf?forcedownload=17>. Acesso em: 1 nov. 2023.

ZAVALA-CASTRO, J, E. *et al.* Fatal Human Infection with Rickettsia rickettsii, Yucatán, Mexico. **Emerging Infectious Diseases**. v. 12, n. 4, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3294703/>. Acesso em: 12 nov. 2023

ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CIÊNCIA DE CORREÇÃO DO RELATÓRIO PELO SUPERVISOR DE ESTÁGIO **72**
ANEXO B – ATA DE APRESENTAÇÃO E DEFESA DO TCC..... **73**

ANEXO A - TERMO DE CIÊNCIA DE CORREÇÃO DO RELATÓRIO PELO SUPERVISOR DE ESTÁGIO

UCDB

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
COORDENAÇÃO DE ESTÁGIO
MEDICINA VETERINÁRIA

Termo de Ciência e Compromisso

Eu, Maristela Halverson, RG nº 4309748-2, declaro:

• Que estou ciente de que o acadêmico Luiz Miguel Franco Leite, RA 177559 cumpriu as horas de estagio supervisionado sob minha supervisão e que utilizou os dados para realização do Relatório de Estágio Supervisionado.

• Que os dados por ele apresentados foram conferidos por mim e são verdadeiros.

Local, Campo Grande – MS, 17 de Outubro de 2023.

Assinatura e carimbo
Maristela Martins Halverson
Médica Veterinária RT
CRMV-MS 1357

ANEXO B – ATA DE APRESENTAÇÃO E DEFESA DO TCC

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
Inspira o futuro

ATA DE DEFESA DO TCC

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO

PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO E EXTENSÃO

ATA DE APRESENTAÇÃO E DEFESA PERANTE A BANCA EXAMINADORA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO (TCC) DE MEDICINA VETERINÁRIA DO(A) ACADÊMICO (A) **LUIZ MIGUEL FRANCO LEITE.**

Aos 27 de novembro de 2023, às 16 horas, realizou-se no Campus da Universidade Católica Dom Bosco, sito à Avenida Tamandaré, nº 6.000, no Bairro jardim Seminário, em Campo Grande, Capital do Estado de Mato Grosso do Sul, a sessão pública de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DO DIAGNÓSTICO PARA LEISHMANIOSE CANINA, apresentado pelo (s) acadêmico (s) acima citado (s), para obtenção do título de MÉDICO VETERINÁRIO. A Banca Examinadora procedeu à arguição pública do (a) candidato (a), estando o(a) acadêmico(a): ☒ **aprovado ( ) aprovado com recomendações ( ) reprovado**, resultado proclamado pelo(a) Professor(a) Ricardo Martins Santos, Presidente da Banca Examinadora. Encerradas as atividades, eu, Ricardo Martins Santos, como presidente da banca, tendo conferido a presente ata, assino-a juntamente com os membros da Banca Examinadora.

Presidente: Prof. Me. Ricardo Martins Santos - CRBio 23844/01-D

Membro: Prof. Dra. Carina Elisei De Oliveira - CRBio/MS 072850

Membro: MSc. Maristela Martins de Souza Halverson - CRMV-MS: 1357

Ciente: Luiz Miguel Franco Leite.

LUIZ MIGUEL FRANCO LEITE